

第4回血液検査機器技術セミナー

CBC 測定のパットホール パットホールの対策

久保田 浩

大阪市立大学医学部附属病院 中央臨床検査部

本発表による開示すべきCOI関係にある企業はありません。

CBCの基本原理と誤差要因

WBC,RBC,PLTの計測の基本は大きさによる数の計測であるため、細胞が単体であり一定の範囲内のサイズであることが前提となる。

誤差要因

細胞の凝集

通常サイズが変化した細胞

細胞以外で計測範囲内のサイズのものの存在

その他（輸液による希釈、不均一な分注など）

ヘモグロビン(Hb)は吸光度計測

誤差要因

吸光度に影響を与えるもの

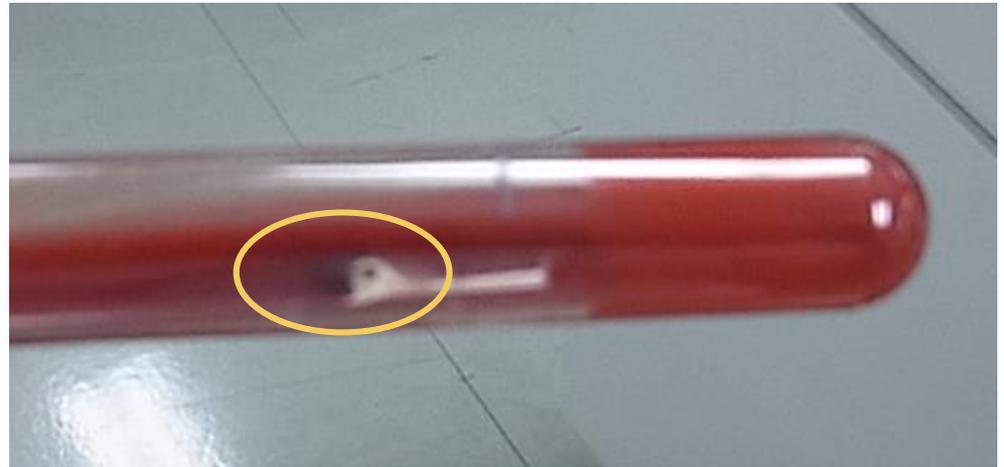
講演内容

- × CBCデータから誤差要因と対策を考える
 - PLTの誤差要因と対策
 - RBCの誤差要因と対策
 - WBCの誤差要因と対策
- × 採血時の誤差要因
- × 測定前の誤差要因
- × 整理問題（時間があれば）
- × まとめ

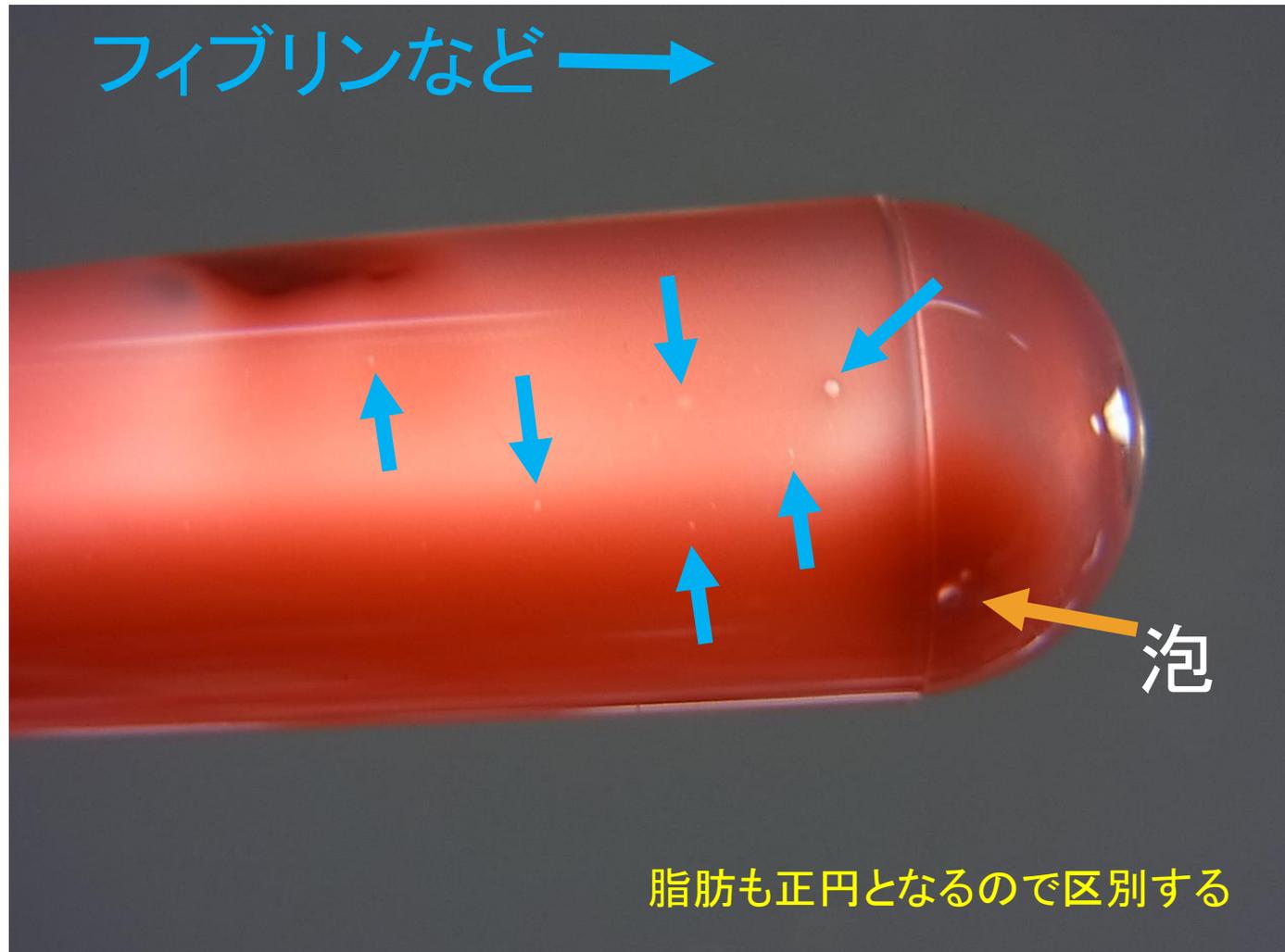
PLT における誤差要因と対策

- × PLT 10万/ μ L未満（前回値なし）
- × PLT 10万/ μ L未満で前回値の半分以下
- × PLT 10万/ μ L以上で前回値より10万/ μ Lの減少
- × 上記の場合はまず、**凝固していないか**を機器の血小板関連項目のチェックおよび検体や標本を確認する。検体量が少ない場合は採血困難な場合が多いので凝固の可能性を考慮する。

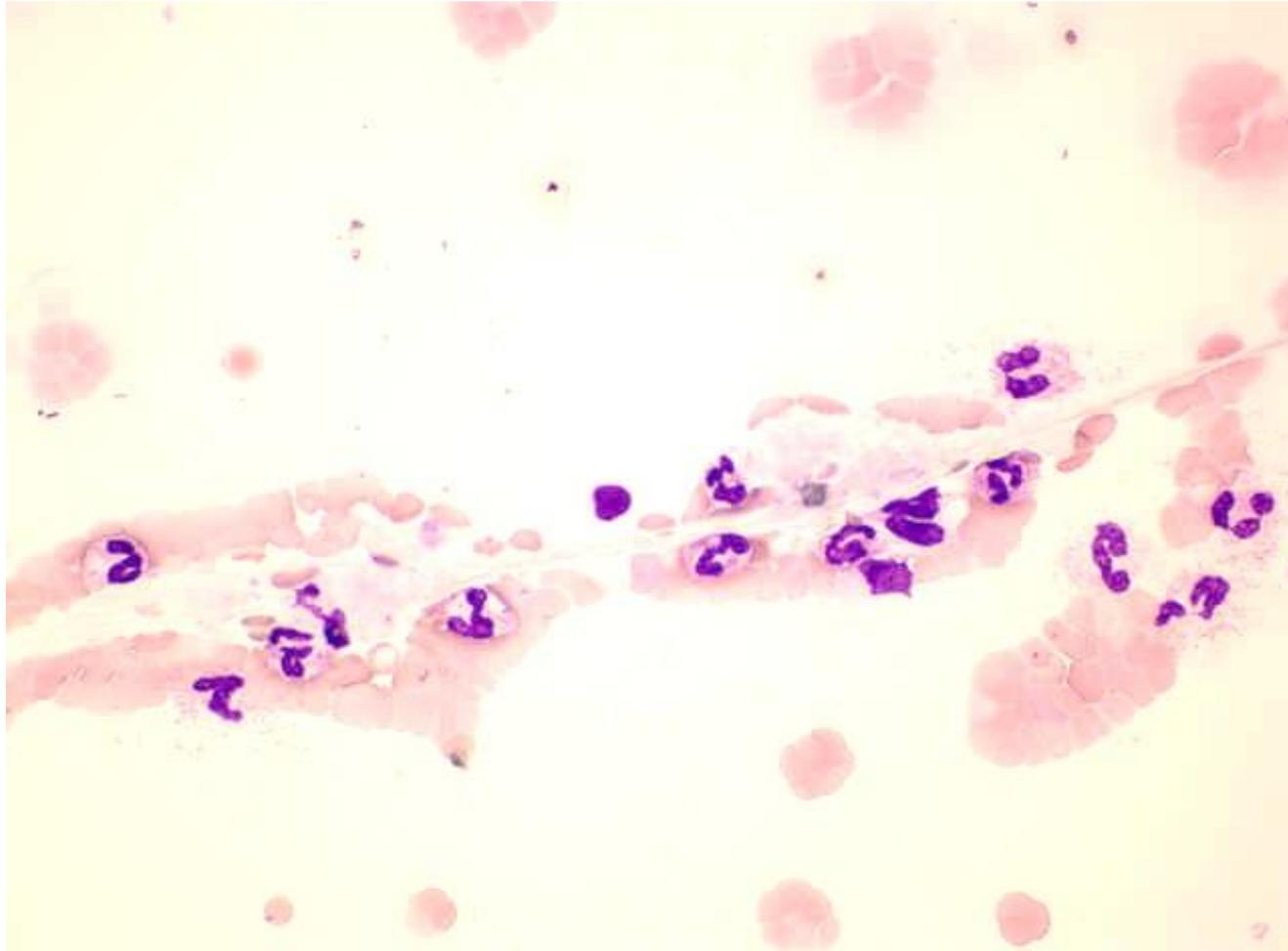
検体を横にして、血液を流して凝固を確認する



検体をかざして凝固を確認する



凝固検体の標本にみられたフィブリン糸



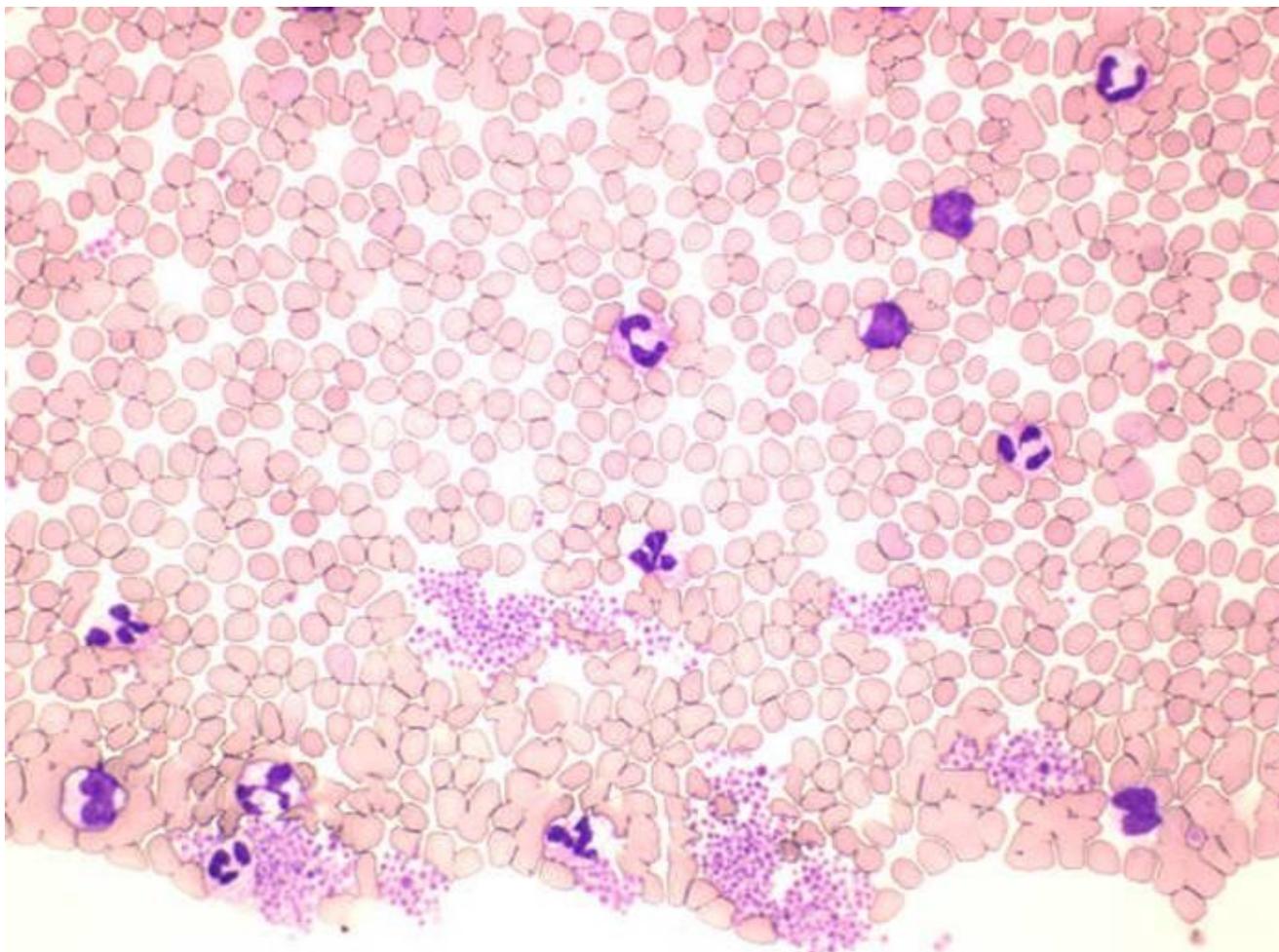
凝固検体の対策

- × 凝固が確認できた場合は、再採血と検体提出の依頼をする。

PLT における誤差要因と対策

- × PLT 10万/ μ L未満（前回値なし）
- × PLT 10万/ μ L未満で前回値の半分以下
- × PLT 10万/ μ L以上で前回値より10万/ μ Lの減少
- × **凝固ではないが**、血小板関連項目、塗抹標本などで血小板の凝集を認める場合（フィブリン糸はない）、**EDTA依存性偽性血小板減少症を疑う。**

EDTA依存性血小板凝集



血小板衛生現象



EDTA依存性血小板凝集

血小板のGP II b / III a に対する抗体がEDTAの存在下で血小板を凝集させる (GP I b に対する抗体も関与？)

血小板衛星現象はEDTAの存在下でIgGが好中球のFcγR III と血小板のGP II b / III a に関与して起こる現象と考えられている

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

- × 抗凝固剤を変える
- × EDTA・2Kを多量に加える
- × カナマイシンを加える
- × クロロキンを加える
- × Vortex攪拌
- × 生血で直ぐにまたは希釈後、機器にて測定
- × GP II b/IIIaモノクローナル抗体を加える

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

- × **クエン酸Na** (1 : 9) で採血
恒数以外の項目に希釈率 1.1 を乗じる
- × **飽和硫酸Mg**
硫酸Mg 1 gを精製水 3 mLで溶解し、
20 μ Lを添加乾燥した試験管に全血 1 mL
を加える
- × **フッ化Na**
WBC数、分類に影響することがある

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

- × EDTA・2Kを規定量の20～40倍加える
(通常は全血 1 mLに 1 mg)

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

× カナマイシン

20mg/mL（終濃度）をEDTA・2Kに加えて採血する。

EDTA・2Kのみの採血後、30分以内でカナマイシンを添加すると凝集が乖離することが多い

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

× クロロキンの添加

クロロキン製剤（ガンマクイーン：カイノス社）と全血（EDTA血）を1：1で混和後室温で10分間放置、CBCを測定し、血小板の測定値に希釈倍数の2倍を掛ける。

凝集が強い場合はクロロキン量を増やすことでほぐれることがある（5倍）。

37℃では偽高値となるため禁忌

EDTA依存性偽性血小板減少の対策

× **Vortex**攪拌を2分行う。

白血球に損傷を与える可能性があるので
vortexの強度により攪拌時間は検討が必要

荒木三奈子 他.日本検査血液学会雑誌 2011;3:346-355

PLT における誤差要因と対策

× 巨大血小板

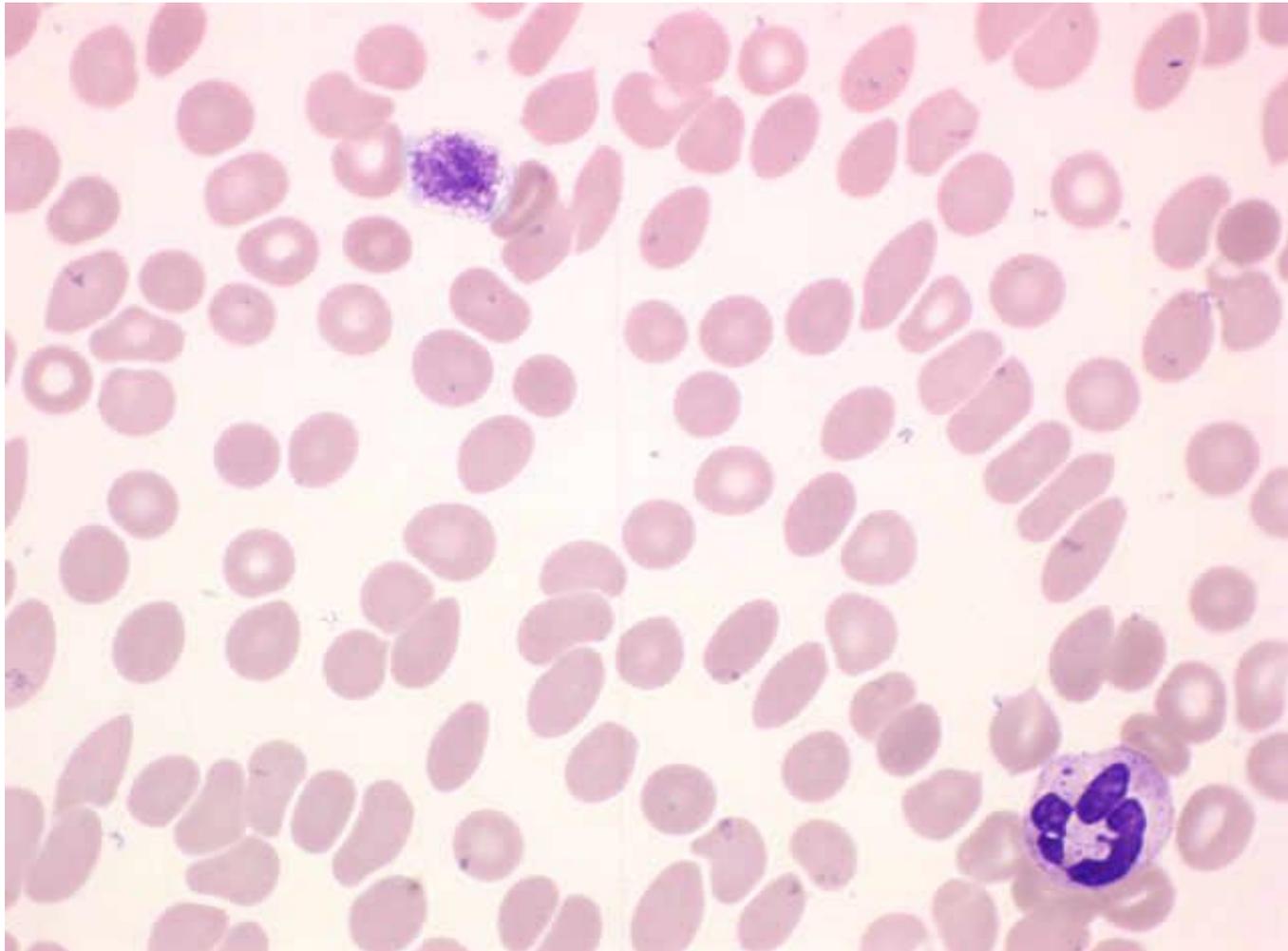
PLT減少

RBCよりサイズが大きいためPLTと認識されず偽性低値となる(RBC,WBCの偽性高値)

分析装置の血小板関連情報や標本により大型血小板を確認する

ブレッカークロンカイト法や免疫法 (CD41 / CD61)、Fonio法による血小板計測を行う

巨大血小板



赤血球よりサイズが大きい(8 μ m<)血小板

巨大血小板の出現する疾患

× MYH9異常症

May-Hegglin anomaly

Sebastian症候群

Fectner症候群

Epstein症候群

× Bernard-Soulier症候群

× ITP

× MDS

× 急性巨核芽球性白血病 (M7)

PLT における誤差要因と対策

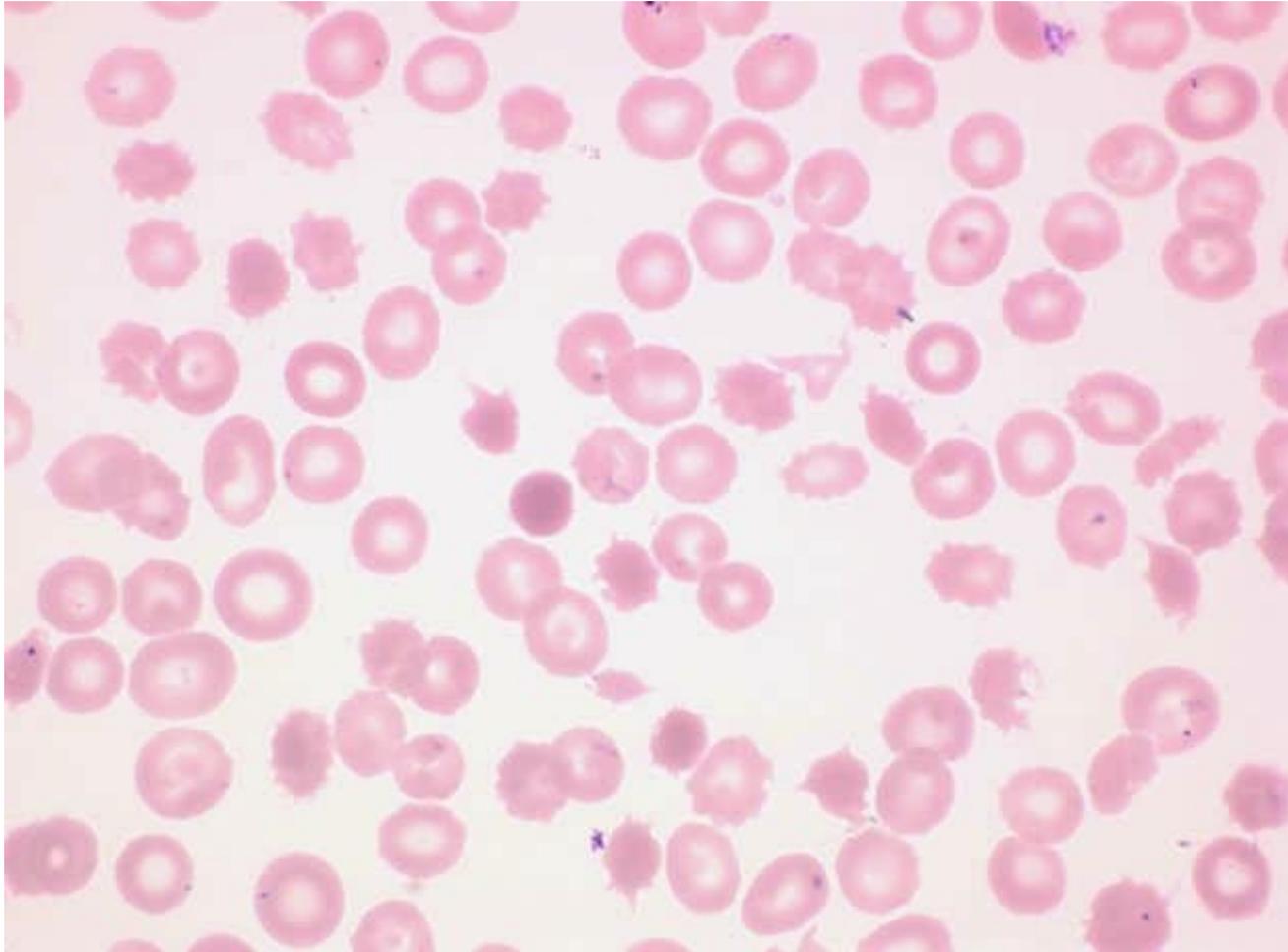
× 破砕赤血球・小赤血球

PLTとして計測され、偽性高値となる
血小板関連のメッセージやスキッタ、
粒度分布により破砕赤血球・小赤血球の
存在を疑う

標本で確認する

ブレッカークロンカイト法や免疫法
(CD41/CD61)、Fonio法による血小板
計測を行う

破碎赤血球



破碎赤血球が出現する疾患

- × 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)
- × 溶血性尿毒症症候群 (HUS)
- × 播種性血管内凝固症候群 (DIC)
- × 人工弁置換

PLT における誤差要因と対策

× クリオグロブリン

析出によりPLTとして計測され、偽性高値
血小板関連のメッセージやスキヤッタ、粒度
分布の異常をとらえる

標本、血清検査結果により確認

37°C10分以上加温後、分析装置で計測し、
メッセージやスキヤッタ、粒度分布で異常が
なくなるのを確認する。

ブレッカークロンカイト法や免疫法（CD41
／CD61）、Fonio法による血小板計測を行う

クリオグロブリンについて

- × 37°C前後以下から白濁、沈殿、凝固が生じ、それ以上に加温すると再び溶解する異常蛋白
- × I型、II型、III型、その他
- × 本態性
- × 続発性
 - 多発性骨髄腫、原発性マクログロブリン血症、悪性リンパ腫、急性・慢性リンパ性白血病、膠原病、自己免疫性疾患、感染症

RBC項目の誤差要因の確認

- × 赤血球項目の誤差要因はMCHCで確認する。
- × $MCHC = \frac{Hb}{Ht} \times 100$
- × $Ht = \frac{RBC \times MCV}{10}$
- × MCHCの基準範囲は31.7～35.3%
(JCCLS 共用基準範囲)

RBC項目の誤差要因

- × MCHC > 36%、MCH高値
- × Hbの偽性高値を疑う

吸光度に影響する誤差要因

高脂血症

高ビリルビン血症

脂肪乳剤の投与

白血球著増

機器の校正不良

高脂血症、高ビリルビン血症の対策

× 上清置換によるHb補正

全血を3000rpm10分遠心

上清を取り除き、希釈液を加え混和し、
分析装置で計測する

上清置換の前後のRBC数で希釈率を算定し、
置換後のHbに希釈率を掛け算出する
補正後のHb値でMCH、MCHCを算出

高脂血症、高ビリルビン血症の対策

× 上清HbによるHb補正

全血を3000rpm10分遠心後、上清のHbを測定し、次式によって補正する。

補正Hb値 = 全血Hb - 上清Hb × (1 - Ht)

補正Hb値でMCH、MCHCを計算

高カロリー輸液の投与の対策

- × 脂肪乳剤投与直後を避けて採血する
- × または前述のHb補正を行う

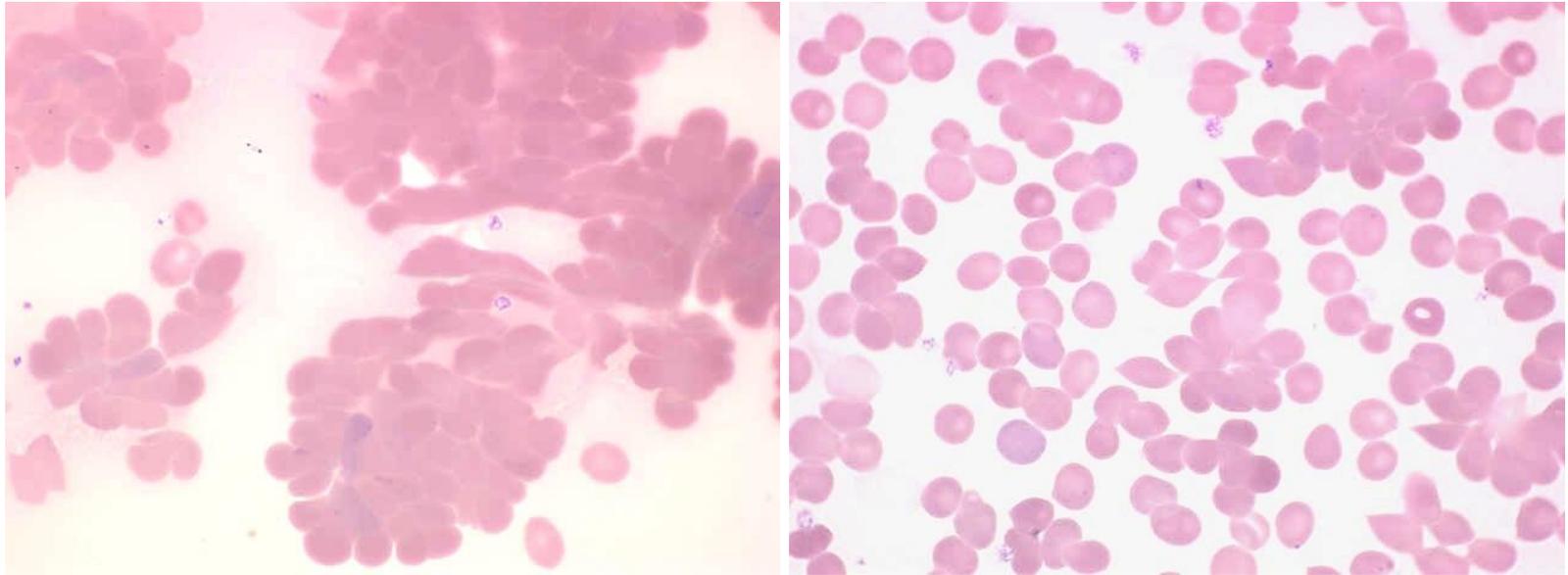
RBC項目の誤差要因

- × MCHC > 36%、MCH 高値
- × ヘモグロビンの偽性高値を疑う
- × Ht の偽性低値を疑う
- × 寒冷凝集
- × RBCが凝集し計測外となり、数が偽性低値
- × RBCが凝集し大きなRBCとして計測されるものがあり、MCV偽性高値となる
(MCV > 110fLとなることが多い)

寒冷凝集の対策

- × 37°C 10分以上加温し、冷やさずに分析装置で測定する
- × MCHCが改善しなければ、希釈液と検体を37°Cに10分以上加温し、5倍希釈し、それを更に37°Cに10分以上加温した後、分析装置で測定する。
- × 上記で改善できない場合は、Hbは影響を受けにくいことを主治医に連絡する。

寒冷凝集



37°C加温後

RBC	104	359	($\times 10^4 / \mu\text{l}$)
Hb	11.4	12.0	(g/dL)
Ht	11.3	37.0	(%)
MCV	109	103	(fL)
MCH	109.6	33.4	(pg)
MCHC	100.9	32.4	(%)

寒冷凝集素について

- × 4℃前後で最も強く自己赤血球またはO型赤血球を凝集させる抗体。血液型Ii型に対する抗体でほとんどがIgM型抗体である。
- × 寒冷凝集素病、マイコプラズマ肺炎、伝染性単核球症、自己免疫性溶血性貧血、悪性リンパ腫で出現する。

RBC項目の誤差要因の確認

- × MCHC < 30%
- × Hbの偽性低値
 サンプリング不良
 校正不良
- × Htの偽性高値

RBC項目の誤差要因の確認

- × MCHC < 30%
- × Hbの偽性低値
- × Htの偽性高値

グルコース高値の点滴液の混入などによりMCVが偽性高値となる

CBC、生化学検査結果を前回値と比較して希釈されたデータではないか、グルコースが高値かどうかの確認をし、輸液の混入を診療科に確認。再採血を依頼する

WBCの誤差要因と対策

× 有核赤血球 (NRBC)

白血球分類で白血球100個に対する有核赤血球の個数を算定し、以下の式により補正する。機種によってはNRBCを計測し自動補正する

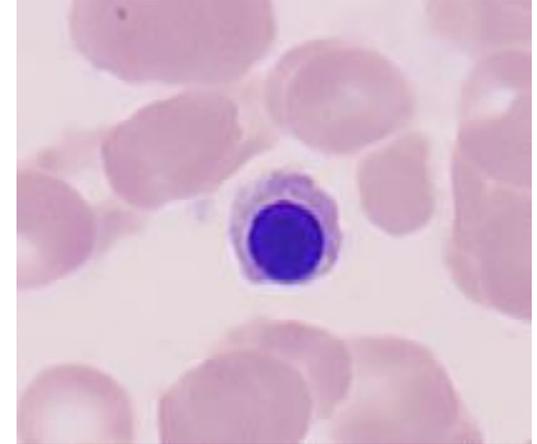
補正WBC

$$= \text{機器WBC} \div (100 + \text{NRBC数}) \times 100$$

日臨技勧告法では10個以上の有核赤血球で補正が必要

有核赤血球が出現する疾患等

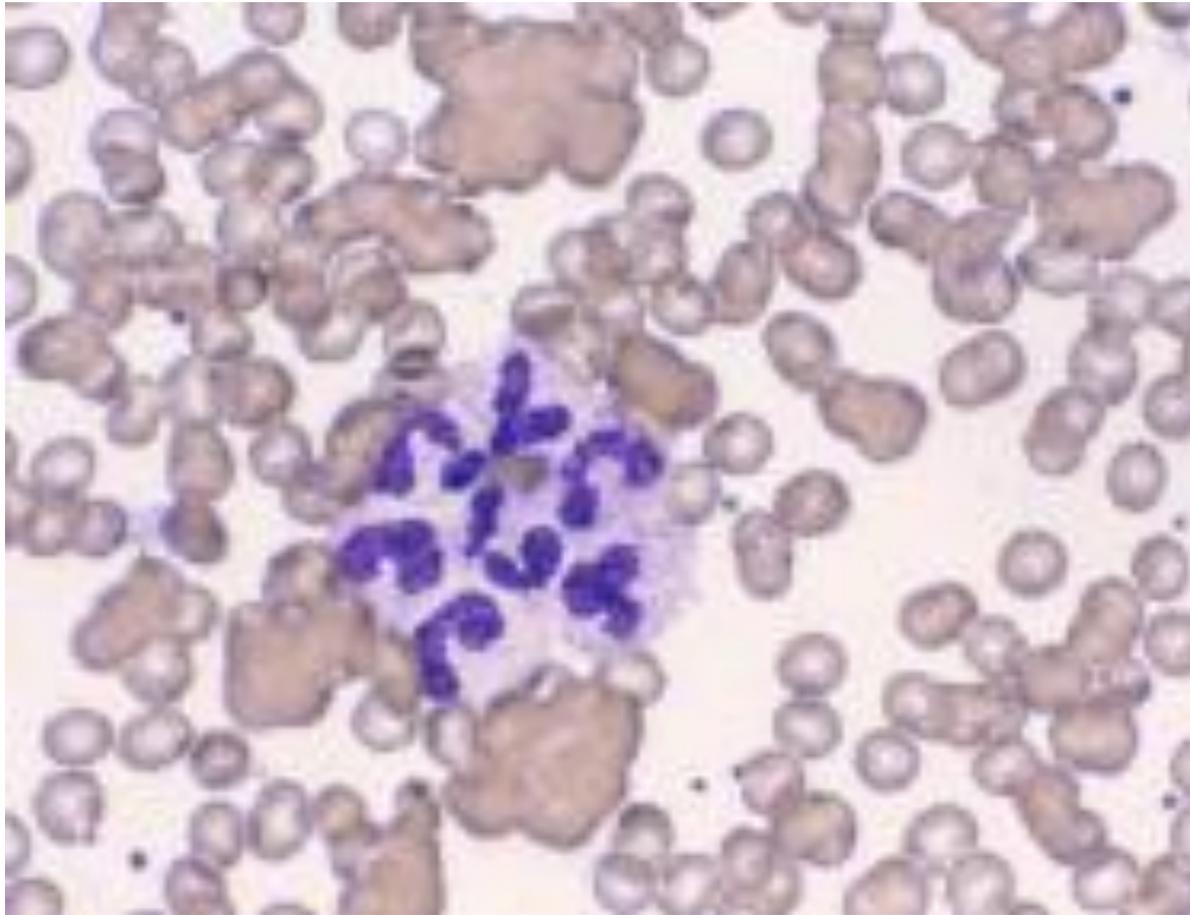
- × 癌の骨髄転移
- × 骨髄線維症
- × 白血病、赤白血病、
- × 溶血性貧血
- × 新生児



WBCの誤差要因と対策

- × **凝固・血小板凝集**により偽性高値
- × **クリオグロブリン**により偽性高値
- × **白血球凝集**により偽性低値
37°Cに加温する
- × **溶血不良**により偽性高値
希釈して測定

白血球・赤血球凝集



提供: 島根医大 三島清司 技師より

採血時の誤差要因

- × 輸液の混入 → 希釈
- × 採血管に分注後の不十分な混和 → 凝固
- × 採血量過不足 → 凝固
- × 採血困難 → 凝固
- × シリンジ採血で不均一な分注 → 不定
- × 検体の取り違え → 不定

(前回値、MCVが発見の手がかり)

測定前の誤差要因

- × キャリブレーション不良
- × メンテナンス不良
- × 検体の取り違い（バーコード読み違い）
- × 混和不足

誤差要因を考える

	初回値	
WBC	121	($\times 10^2 / \mu\text{L}$)
RBC	223	($\times 10^4 / \mu\text{L}$)
Hb	11.9	(g/dL)
Ht	25.0	(%)
HCV	112	(fL)
MCH	53.4	(pg)
MCHC	47.6	(%)
PLT	9.4	($\times 10^4 / \mu\text{L}$)

CBCの誤差要因と対策 まとめ

- × 誤差要因の影響の受け方は検体によっても、あるいは各分析装置によっても異なる。
- × 分析装置の原理を理解し、分析装置から出たメッセージと関連した誤差要因を把握しておく必要がある。
- × 遭遇する頻度の高い誤差要因に対する対策を講じ、より正確な検査結果を診療科へ提供できるようにすることが重要である。