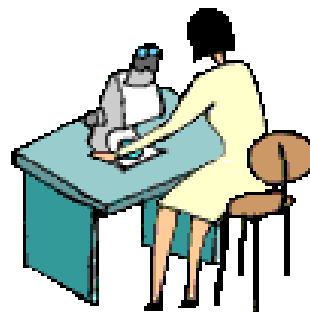


日本臨床検査自動化学会
第5回血液検査機器技術セミナー
2015.10. 8(THU)

血小板減少例に対しての注意点と その工夫

— 偽性血小板減少を見逃さないために —



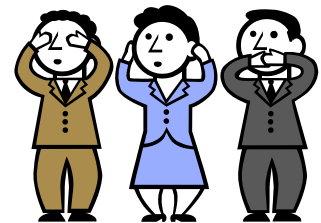
NTT東日本関東病院 臨床検査部
後藤 文彦

血小板減少例に対しての注意点とその工夫



Point

- 血液は血管外に出ると凝固する
- 血小板は粘着や凝集することが仕事である
- 抗凝固剤EDTAで血小板が凝集することがある
- 血算のインシデントでは血小板に関することが多い
- 自動計数装置の測定原理を理解しておく必要がある
- 血小板減少例では、必ず末梢血塗抹標本で観察する
- 検査の流れ、検査システム上での工夫も重要と考える



今宵のお話

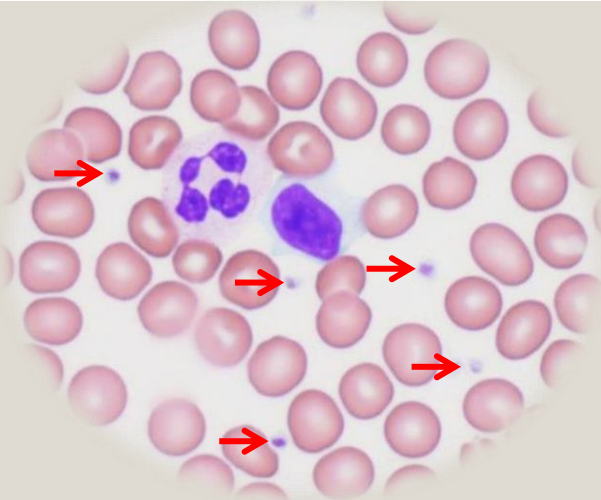


- 血小板についておさらい
- 血小板の測定法、誤差要因
- 血小板報告までのあれこれ・・・
 - ・当院の運用・工夫のご紹介
 - ・EDTA依存性血小板減少の対処法

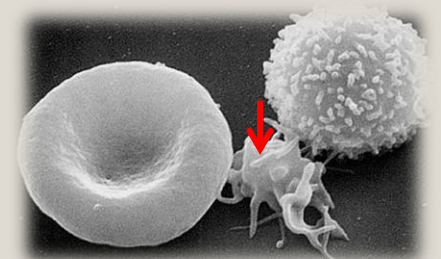


血小板 (Platelet; Plt)

末梢血塗抹標本



電顕像



Wikipediaより

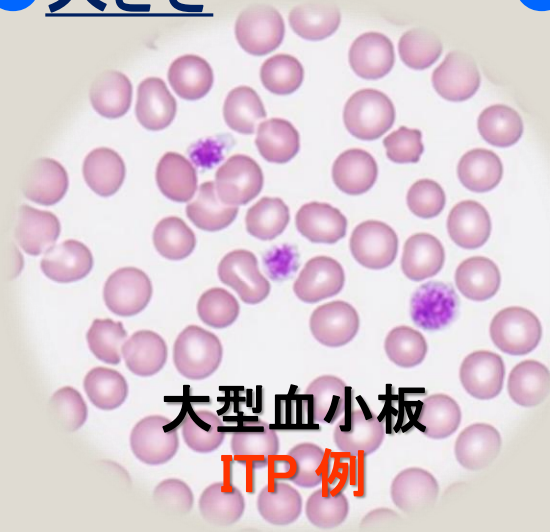
- 19世紀の後半に存在が明らかになり、Dr.Wrightにより命名された。
- 直径 $2\sim4\mu\text{m}$ で、普通染色では淡赤紫色に染まるアズール顆粒を有し、顆粒のない部分は淡青色を呈する。
- 機能的に粘着や凝集するため、測定上誤差を生じやすい。

着眼点

- 大きさ
 - 形状
 - 顆粒
 - 数
 - 偽性血小板減少
 - 巨核球の出現
- (検体凝固、EDTA依存性血小板凝集、血小板衛星現象)

血小板の着眼点

● 大きさ



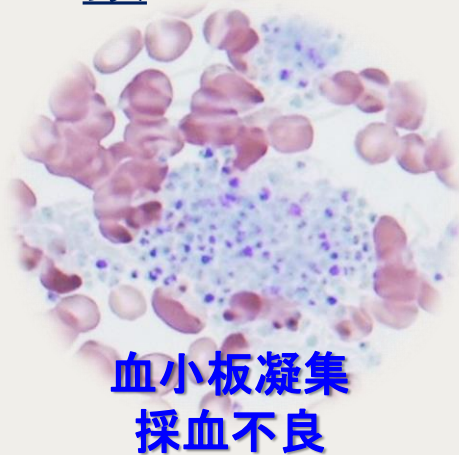
● 形状



● 顆粒



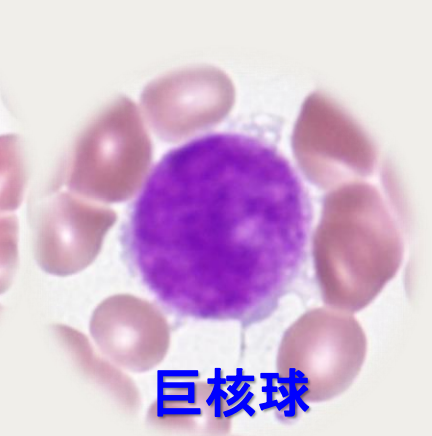
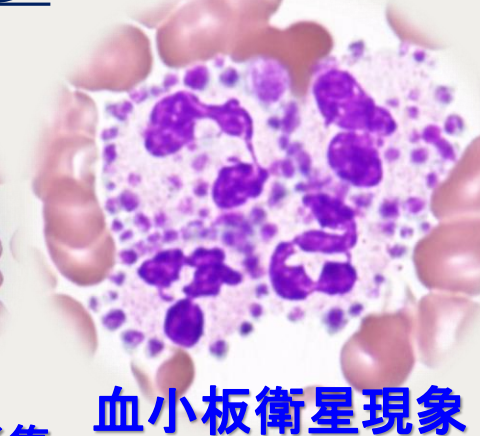
● 数



● 偽性血小板減少



● 巨核球の出現



今宵のお話



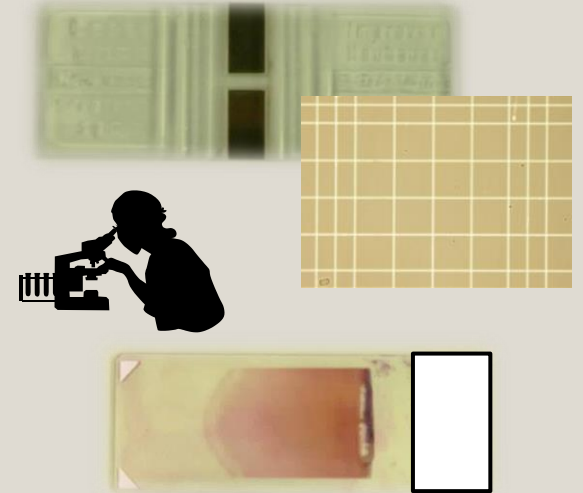
- 血小板についておさらい
- 血小板の測定法、誤差要因
- 血小板報告までのあれこれ・・・
 - ・当院の運用・工夫のご紹介
 - ・EDTA依存性血小板減少の対処法



血小板の測定法

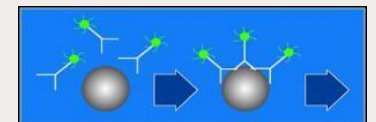
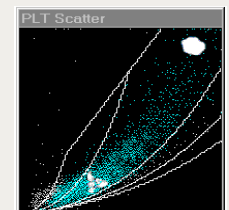
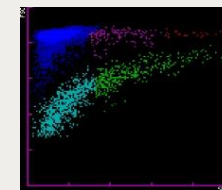
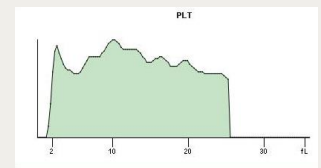
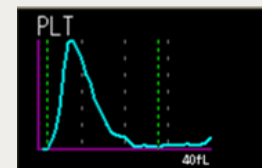
視 算 法

- 直接法：ブレッカークロンカイト法
(Brecher-Cronkite method)
- 間接法：フォニオ法 (Fonio)



機 械 法

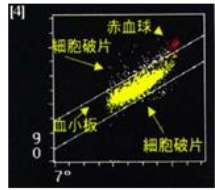
- 電気抵抗法
- 光学的方法
- モノクロナール抗体を用いた方法



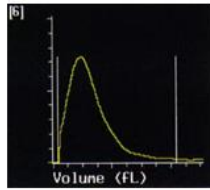
血小板測定：主要メーカーの工夫

現在の技術：血小板複合解析

光学（レーザー）法



電気抵抗法

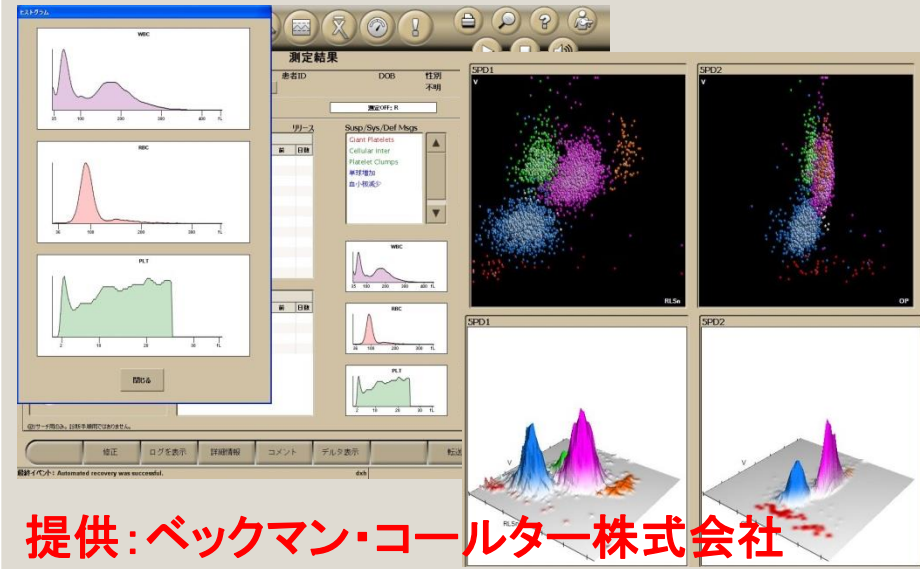


CD61による血小板測定



電気抵抗法とレーザー法を組み合わせた測定原理で全検体測定

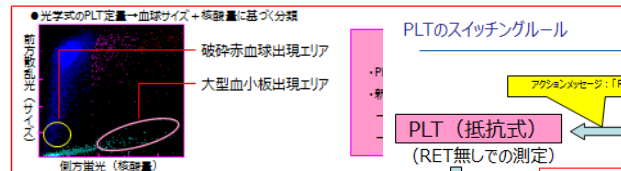
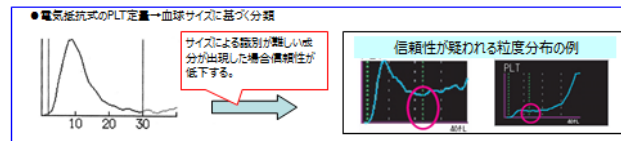
提供：アボットジャパン株式会社



提供：ベックマン・コールター株式会社

RETチャンネルにおけるPLTの測定

sysmex



PLTのスイッチングルール

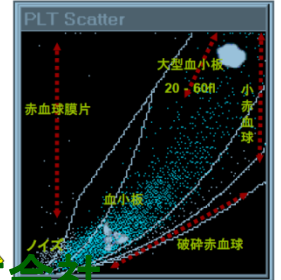
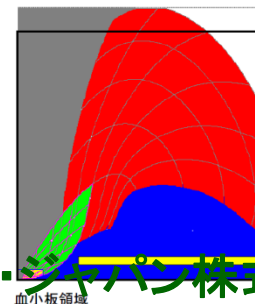
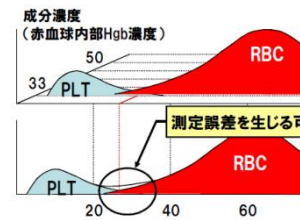
sysmex

提供：シスメックス株式会社

容積と細胞内部情報の二次元解析

- 電気抵抗による大きさの判断だけでなく、細胞の内部情報まで実測
- 赤血球と血小板を明確に分離

大型血小板、小赤血球、破碎赤血球の2D-血小板解析



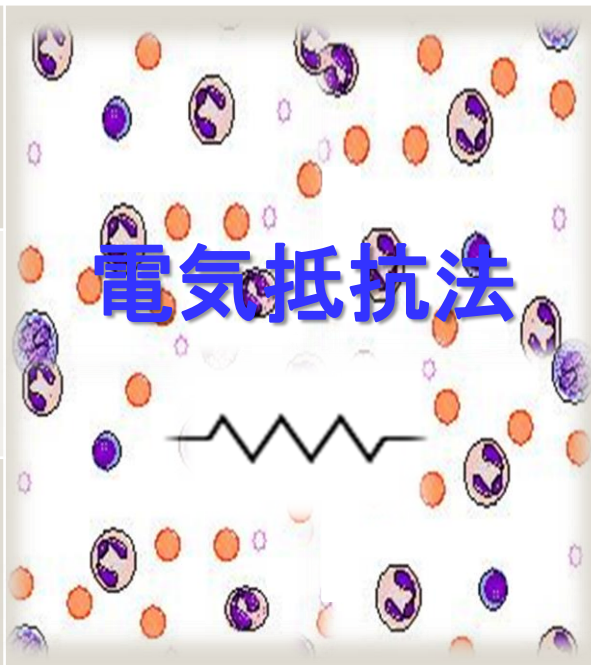
提供：シーメンス・ジャパン株式会社

自動血球計数装置(機械法)の測定原理

赤血球数

白血球数

血小板数



溶血処理後に測定
(数が少ない)

他の原理を搭載して
いる装置もある

ヘモグロビン量

シアンメトヘモグロビン法

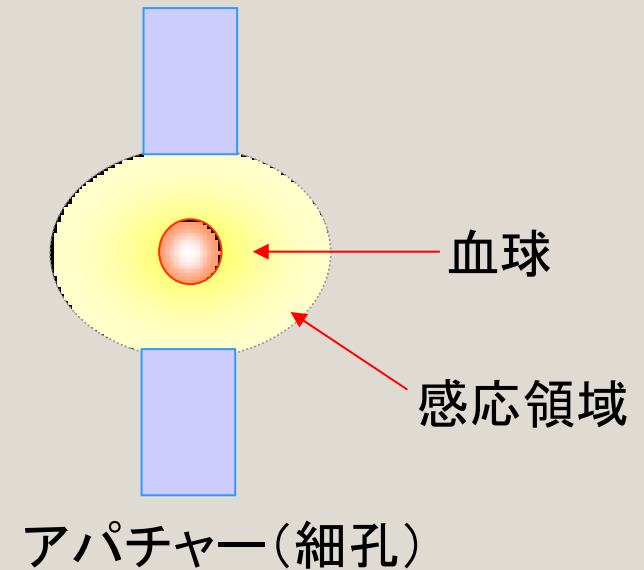
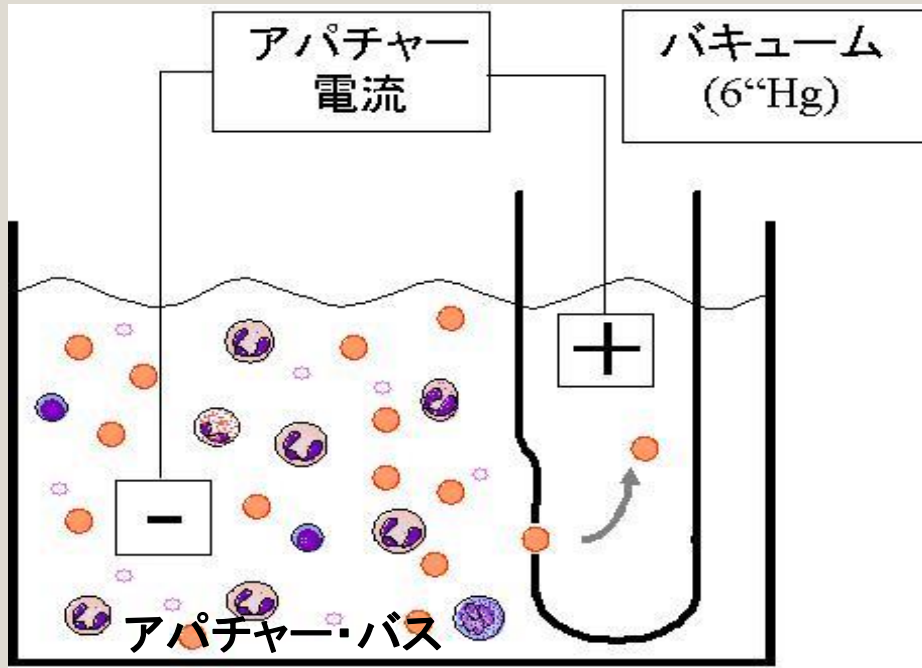
溶血処理し比色

ヘマトクリット値



1) MCVと赤血球から算出
2) 定量吸引した血液量
から累積算出

電気抵抗理論模式図



【W.H.Coulter】電気抵抗を利用した粒子測定原理で、粒子が細孔を通過する際に生じる、2電極間の電気抵抗の変化を測定します。

この電気抵抗は、通過する粒子の体積に正確に比例しています。

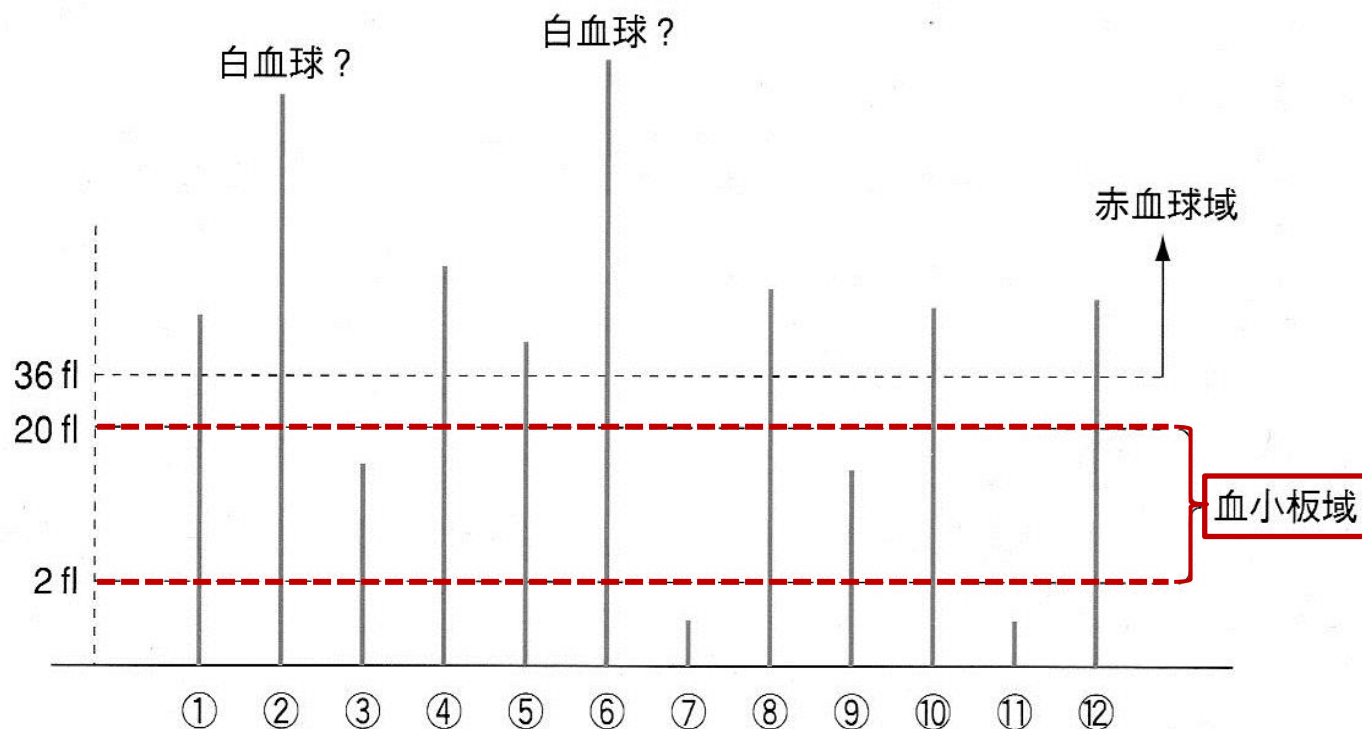
【オームの法則】電流は加えた電圧に比例し、抵抗に反比例する。

電圧、電流、抵抗のうち2つが判明していれば残りの1つも計算で簡単に求めることができます。 ● 電流(I) = 電圧(V) ÷ 抵抗(R)

電気抵抗法の原理

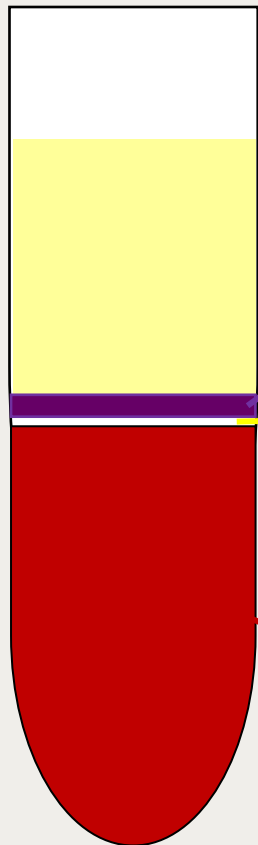
—電気抵抗の変化を捉える—

赤血球バス内アパーチャを通過した粒子のパルスの様子

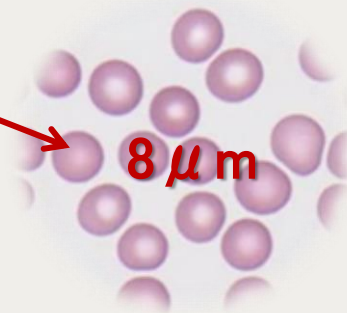
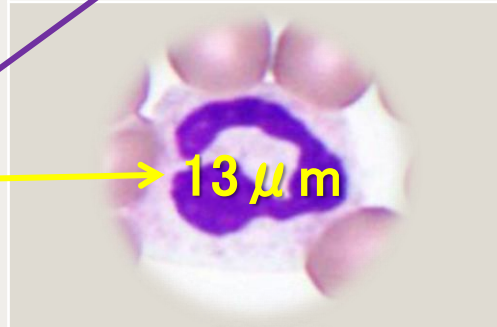
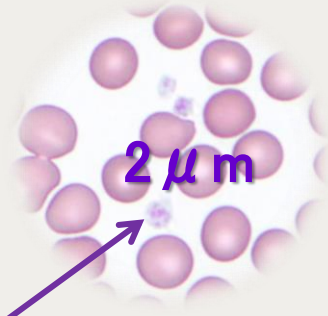


電気抵抗法の問題点

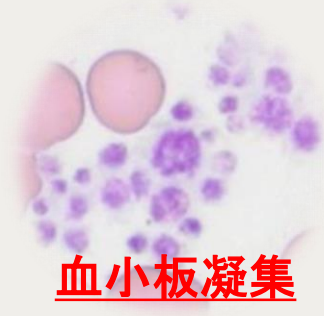
量的な把握



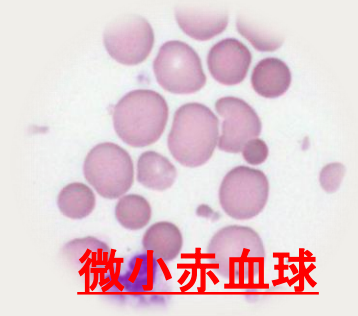
大きさ(正常)



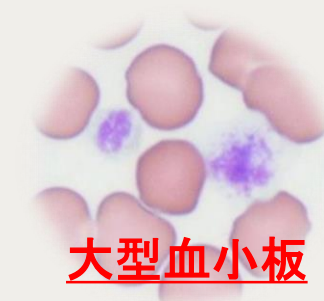
異常出現(誤差要因)



血小板凝集



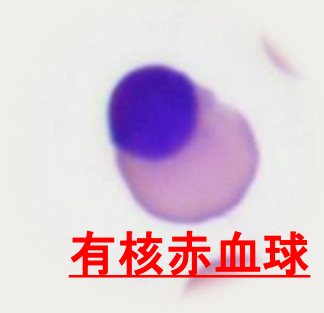
微小赤血球



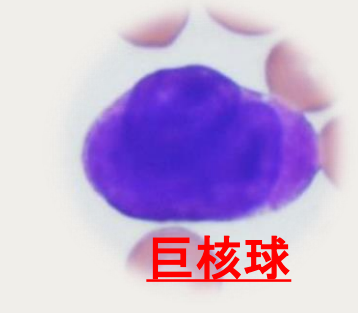
大型血小板



クリオグロブリン



有核赤血球



巨核球

血小板報告に関するインシデント事例

内 容	原 因	対処方法
偽 <u>低</u> 値	検体の凝固	・検体の確認 ・塗抹標本で確認 ・再採血依頼 など
偽 <u>低</u> 値	EDTA依存性 血小板凝集	・検体の確認 ・塗抹標本で確認 ・抗凝固剤を替える など
偽 <u>低</u> 値	大型PLT出現	・視算法で算定 ・血液像でコメント ・別機器で測定 など
偽 <u>低</u> 値	報告ミス 凝固検体の値(初回値) を報告した	・ダブルチェック ・初回値の消去 など
偽 <u>高</u> 値	装置の不具合 ノイズで偽高値	・ヒストグラム確認 ・メーカーへ連絡 など



検体の凝固例

	検体(初回)	再採血検体
WBC($\times 10^9/L$)	12.0	8.9
RBC($\times 10^{12}/L$)	3.33	3.29
Hb(g/dL)	9.0	9.1
Ht(%)	28.0	28.2
Plt($\times 10^9/L$)	85	224

血小板数が偽低値、白血球数が偽高値を示した事例.

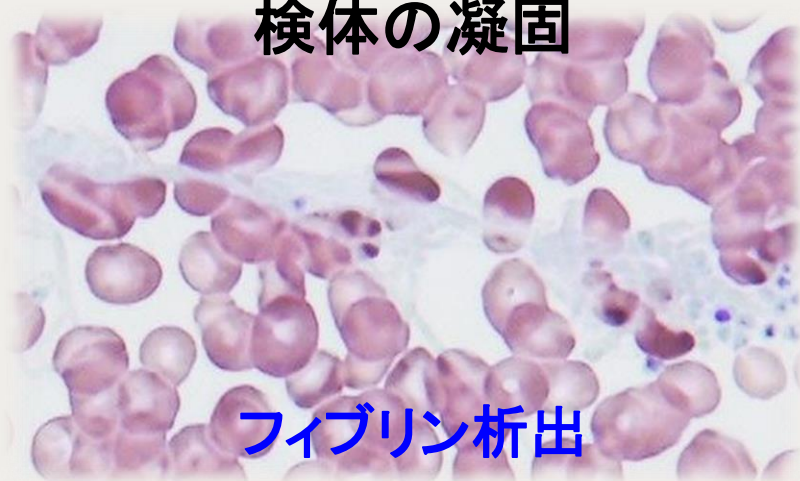


凝集した血小板 → 白血球にカウントされた.

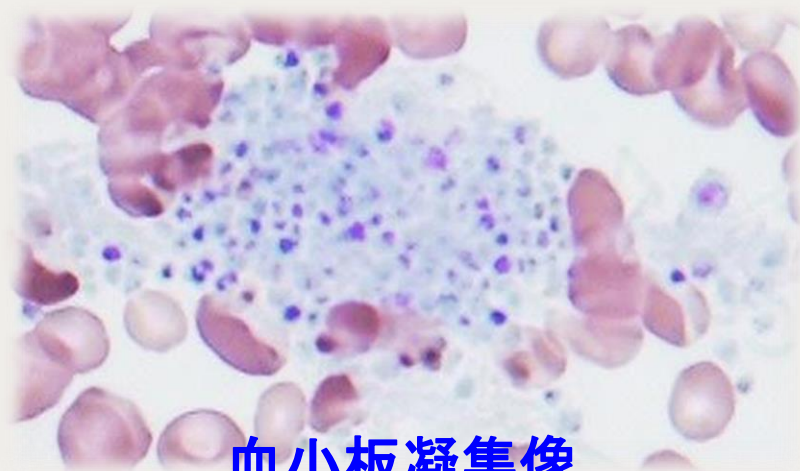
注意を要する偽性血小板減少

採血不良/採血管の混和不足

検体の凝固

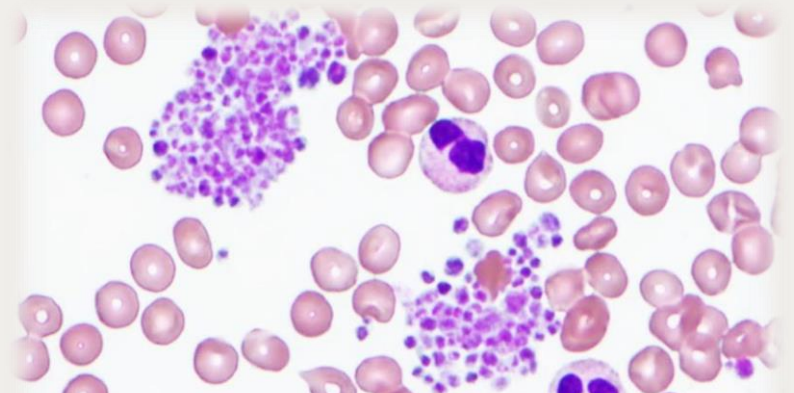


フィブリン析出

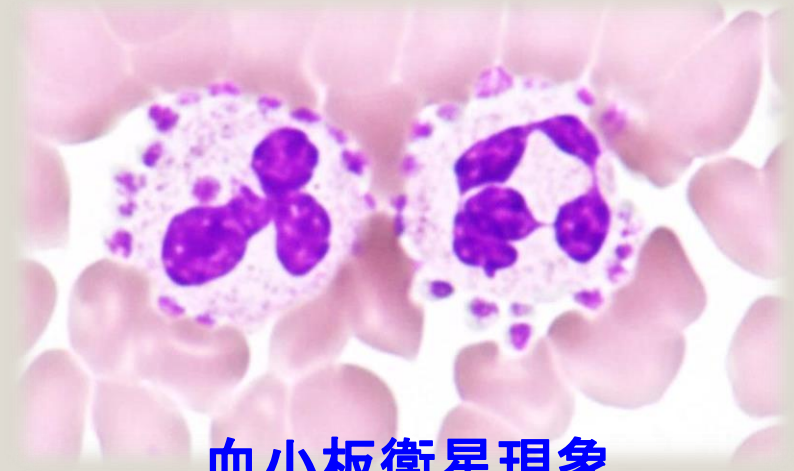


血小板凝集像

抗凝固剤EDTA塩の影響



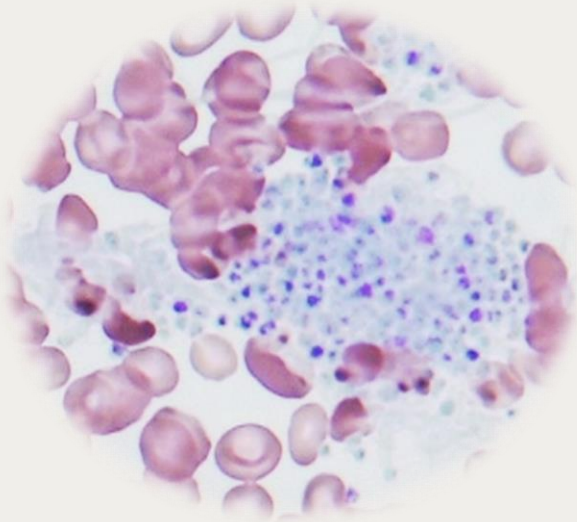
EDTA依存性血小板凝集



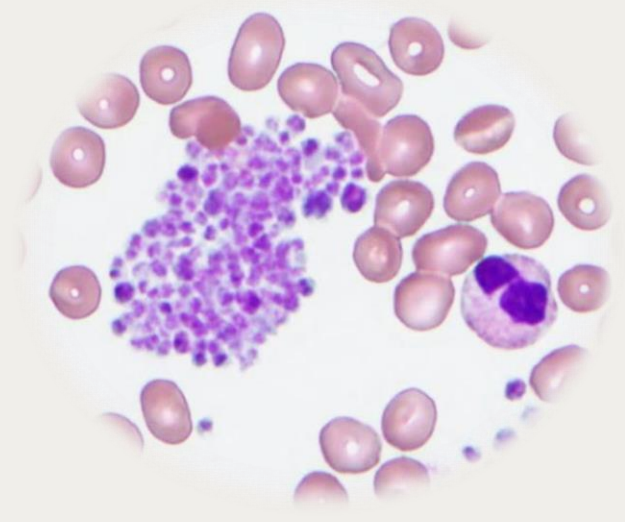
血小板衛星現象

血小板凝集像の鑑別点

検体凝固による血小板凝集



EDTA依存性血小板凝集



有

フィブリン

無

不明瞭

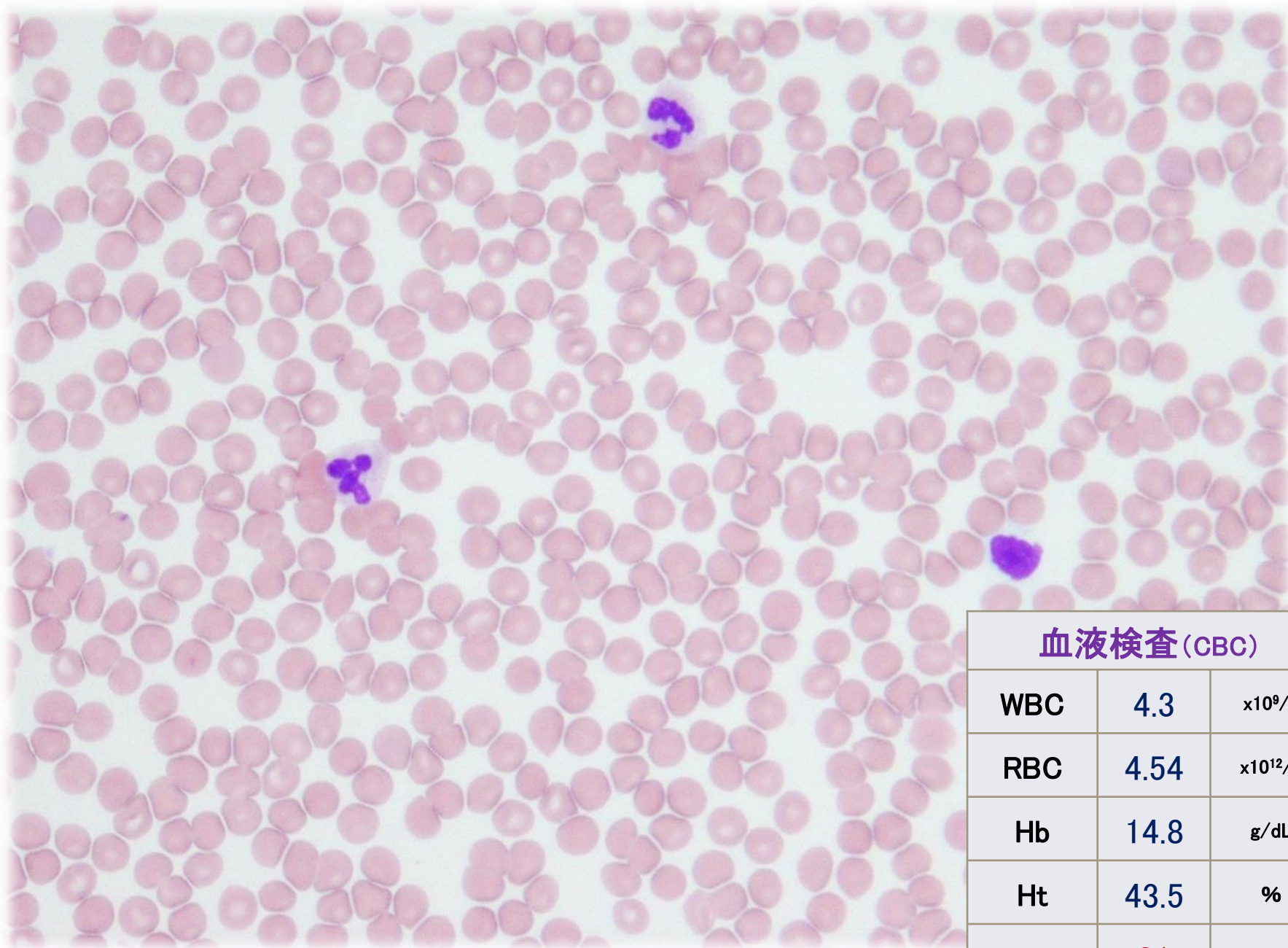
凝集の境界

明瞭

減少(放出反応)

顆粒

有



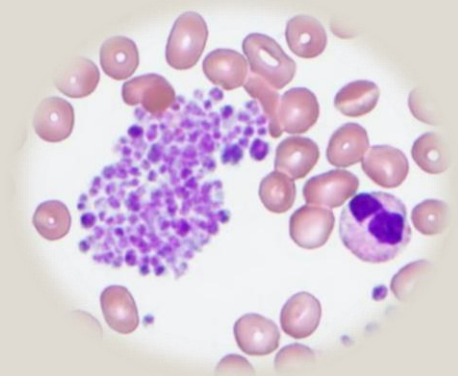
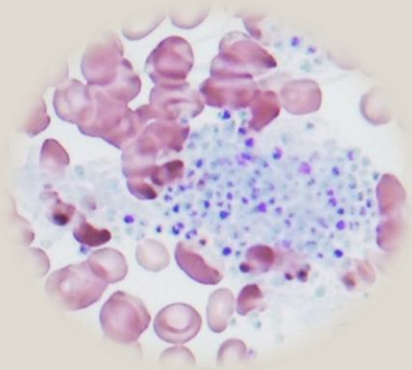
血液検査 (CBC)

WBC	4.3	$\times 10^9/L$
RBC	4.54	$\times 10^{12}/L$
Hb	14.8	g/dL
Ht	43.5	%
Plt	21	$\times 10^9/L$

ここまでのまとめ



岩



- 血小板は粘着や凝集することが仕事(一次止血).
- 抗凝固剤EDTAによって血小板が凝集することがある.
- 血小板減少を認めた場合、必ず末梢血塗抹標本で観察する.



●フィブリン(+)————→採血不良

●フィブリン(-)————→EDTA依存性

標本の観察では、必ず全体像の確認すること！

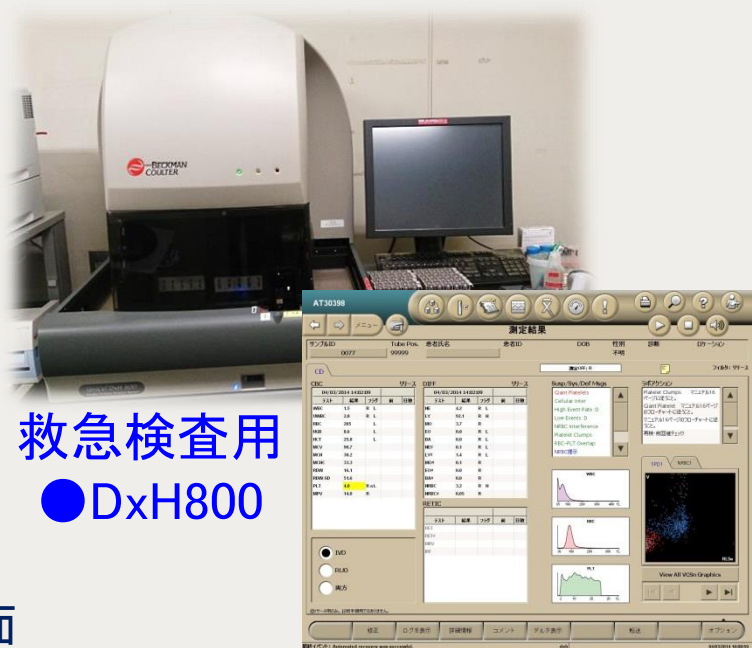
今宵のお話



- 血小板についておさらい
- 血小板の測定法、誤差要因
- 血小板報告までのあれこれ・・・
 - ・ 当院の運用・工夫のご紹介
 - ・ EDTA依存性血小板減少の対処法

当院の運用・工夫

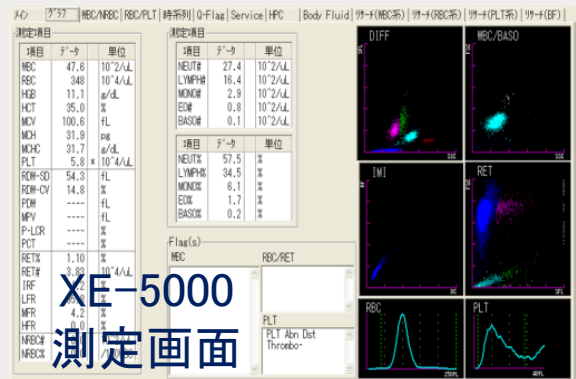
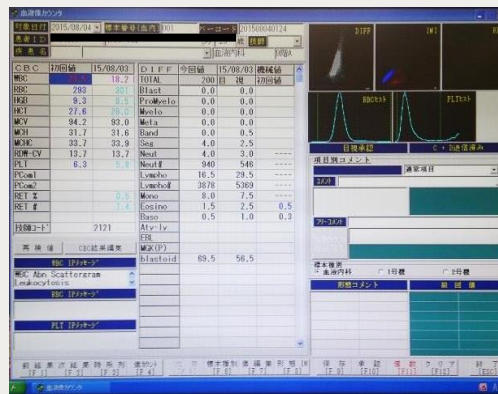
測定装置・検査システムのご紹介



血液検査システム画面

項目	検査項目	結果	参考値	単位
09A07 前日	WBC	2.3	270	10 ⁹ /L
	RBC	9.1	26.5	10 ¹² /L
	HGB	95.0	32.8	g/L
	HCT	34.3	1.0	%
	MCV	37.8	118.0	fL
	MCH	10.4	12.4	pg
	MCHC	27.5	31.1	g/dL
	PLT	33.2	1.0	10 ⁹ /L
	RDW	14.8	11.5	%
	RET	2.1	0.5	%
09A07 今日	WBC	1.2	251	10 ⁹ /L
	RBC	1.2	262	10 ¹² /L
	HGB	6.1	24.7	g/L
	HCT	94.3	30.0	%
	MCV	32.8	11.5	fL
	MCH	5.1	12.4	pg
	MCHC	15.6	31.1	g/dL
	PLT	32.9	2.9	10 ⁹ /L
	RDW	14.8	11.5	%
	RET	1.9	0.5	%

血液像カウンター画面



血液検査システム画面

血小板報告までの注意点

進捗状況

運用・工夫①

検体の確認

- 1) 凝固の有無
- 2) 採血量
- 3) 到着確認

スタッフ教育 の徹底！



- ・凝固塊がキャップへ付着している.
- ・針金等で血液をすくうと凝固塊が確認できる.

検体の確認
凝固の有無？
採血量は？



血小板報告までの注意点

進捗状況

血液検査システム画面紹介

CBC確認

- 1) 異常値
- 2) 前回値
- 3) 再検値
- 4) 診療科

[illegible]

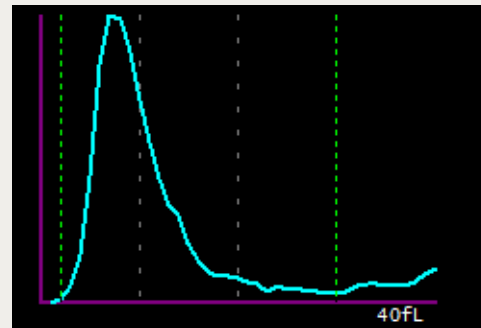
自動血球計数装置からの情報を活用する



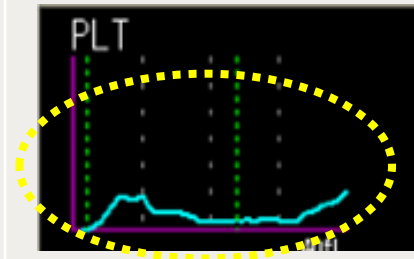
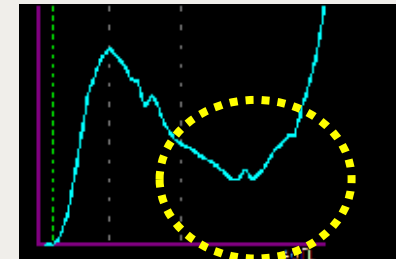
正常

異常 (着目点)

ヒストグラム

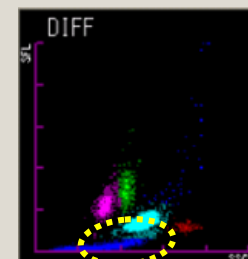
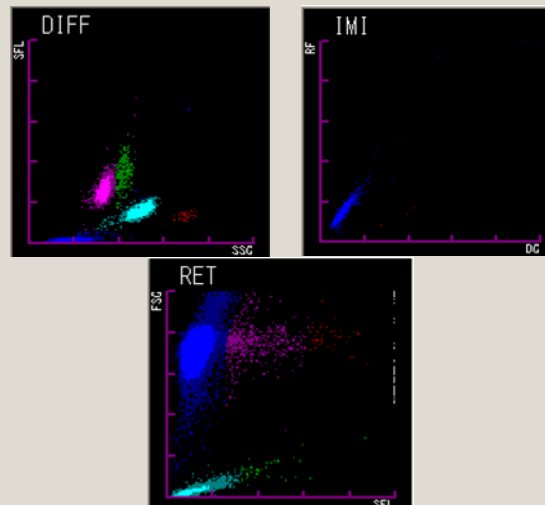


血小板ヒストグラム
(正常)

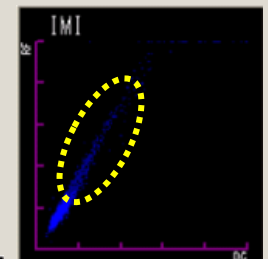


- サイズによる識別が困難で信頼性が低下している

スキャッター
グラム



- ゴースト～NEUT領域



- ゴーストの延長上
- 大型血小板領域

EDTA依存性血小板凝集例

メイン クラフ WBC/NRBC RBC/PLT 時系列 Q-Flag Service HPC Body Fluid リーチ(WBC系) リーチ(RBC系) リーチ(PLT系) リーチ(BF)

測定項目

項目	データ	単位
WBC	5.34	$10^3/\mu\text{L}$
RBC	394	$10^4/\mu\text{L}$
HGB	13.6	g/dL
HCT	41.5	%
MCV	105.3	fL
MCH	34.5	pg
MCHC	32.8	g/dL
PLT	1.1 *	$10^4/\mu\text{L}$
RDW-SD	53.4	fL
RDW-CV	14.0	%
PDW	----	fL
MPV	----	fL
P-LCR	----	%
PCT	----	%
RET%	1.45	%
RET#	5.71	$10^4/\mu\text{L}$
IRF	15.1	%
LFR	84.9	%
MFR	12.8	%
HFR	2.3	%
NRBC#	0.00	$10^3/\mu\text{L}$
NRBC%	0.0	/100WBC

測定項目

項目	データ	単位
NEUT#	3.17	$10^3/\mu\text{L}$
LYMPH#	1.60	$10^3/\mu\text{L}$
MONO#	0.46	$10^3/\mu\text{L}$
EO#	0.10	$10^3/\mu\text{L}$
BASO#	0.01	$10^3/\mu\text{L}$

項目	データ	単位
NEUT%	59.3	%
LYMPH%	30.0	%
MONO%	8.6	%
EO%	1.9	%
BASO%	0.2	%

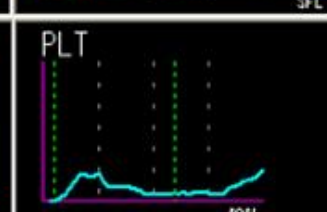
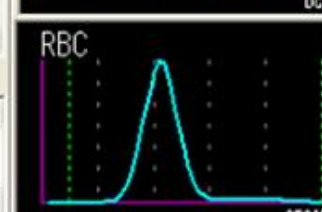
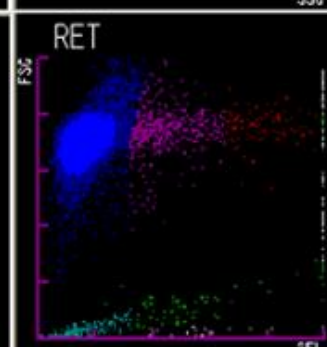
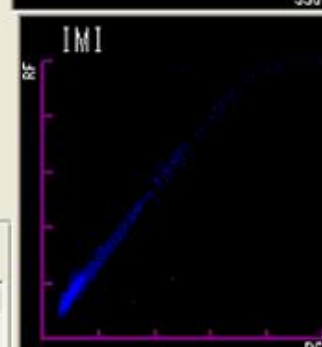
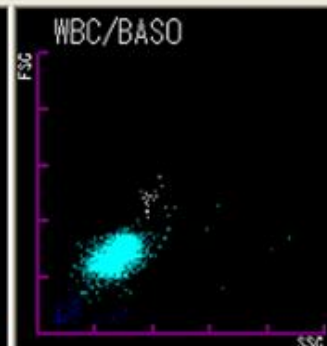
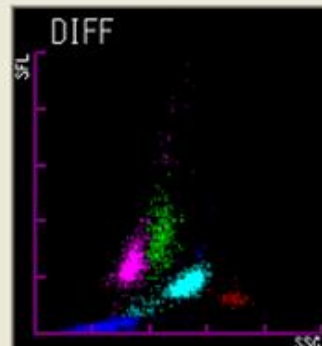
Flag(s)

WBC

RBC/RET

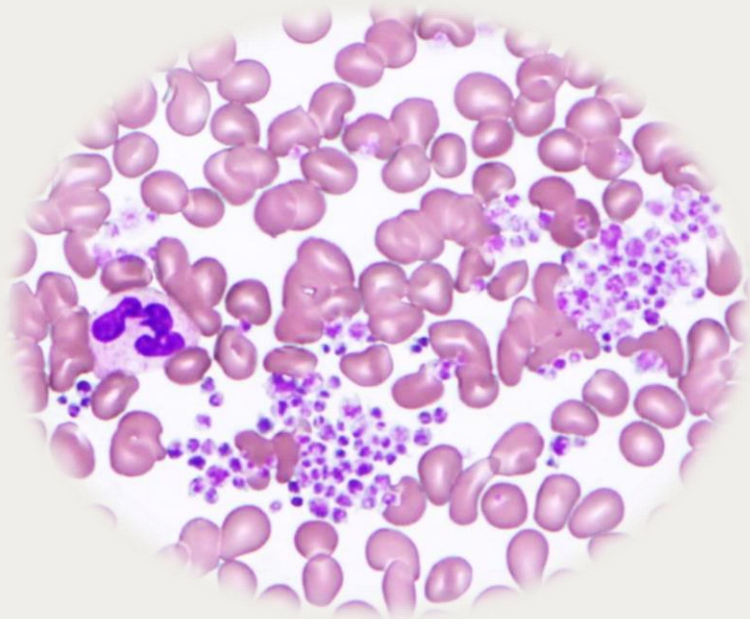
PLT

PLT Clumps?
PLT Abn Dist
Thrombo-



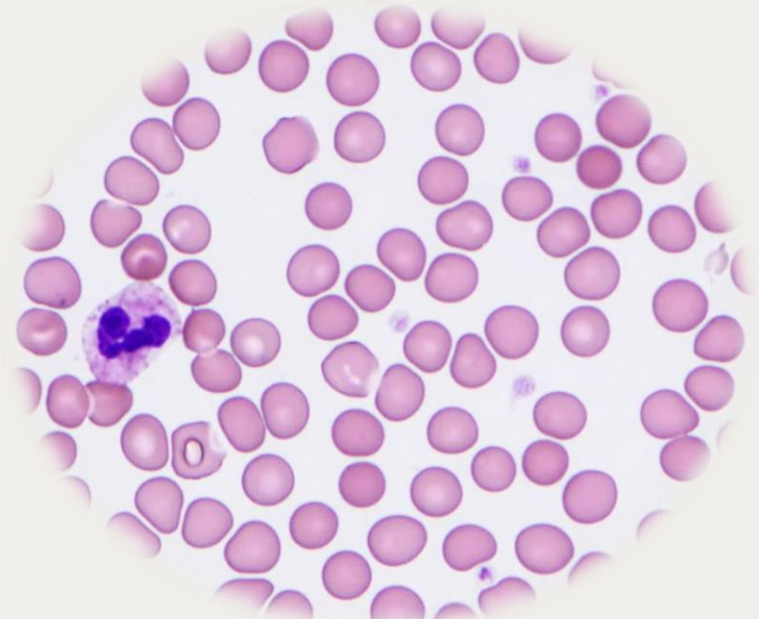
EDTA依存性血小板減少例

EDTA加血液



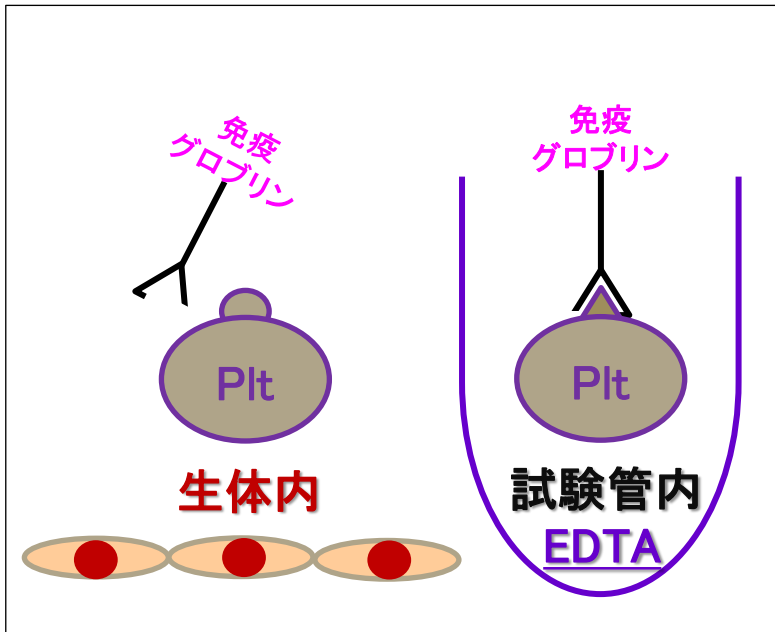
- フィブリンを認めない血小板凝集を認めたため、クエン酸（凝固検査用）で再採血を依頼.

クエン酸加血液



- クエン酸Na（液体）によって希釈がされているため、測定値を1.1倍して報告する.

EDTA依存性血小板減少



EDTA依存性血小板凝集の機序

- 抗凝固剤であるEDTAによって血小板が凝集することがある.
- 上記をEDTA依存性偽性血小板減少(俗名:EDTA凝集)と呼ぶ.
- 発生頻度は0.2~1.0%と報告されており、種々の疾患を有している人、抗生剤の投与者、自己免疫疾患に多いといわれていますが、健常人にも認められる.
- その機序の詳細は不明ですが、EDTAの存在下で血小板表面の抗原性が変化し、免疫グロブリンが反応して凝集を引き起こすと考えられている.

EDTA依存性血小板凝集の回避法

現状では標準的な方法がない

- 生血で測定 (プレーン管で採血し、直後に測定)
- 過剰なEDTAの添加 (通常の20～30倍量)
- 抗凝固剤を替える (クエン酸Na 等)
- FC管 (NaF + EDTA-2Na + クエン酸Na)
- アミノグリコシド系抗生物質 (カナマイシン等) を添加
- テオフィリン添加
- GP II b/ III aモノクローナル抗体添加
(● ボルテックスを用いた攪拌)



血小板報告までの注意点

進捗状況

運用・工夫②

血小板値の チェック

- 1) 再検基準
- 2) コメント
- 3) 結果報告



【当院での再検基準、報告、他】

初回値および急激な減少を示した場合

- $< 50 \times 10^9/L$: 検体・目視確認後、担当医へ電話報告
- $< 100 \times 10^9/L$: 検体・目視確認後、報告(結果送信)
- 前回値との比較 : 50%減、50%増は原則再検、(目視確認)

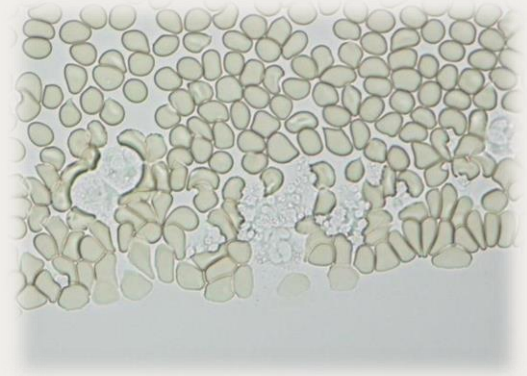
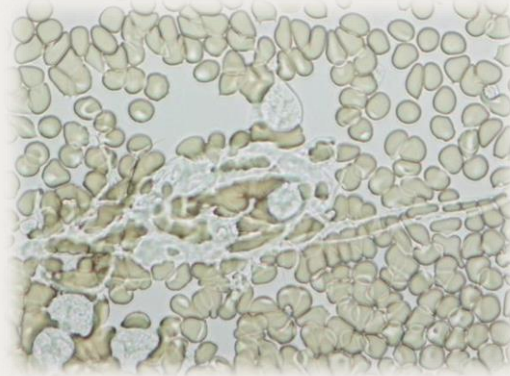
血小板減少の目視確認法

検体の凝固

ETDA依存性血小板凝集

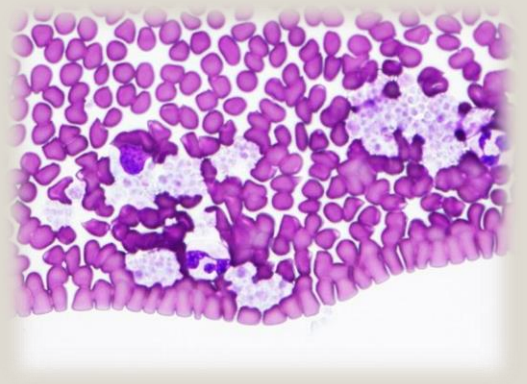
未染標本

コンデンサを
下げて観察



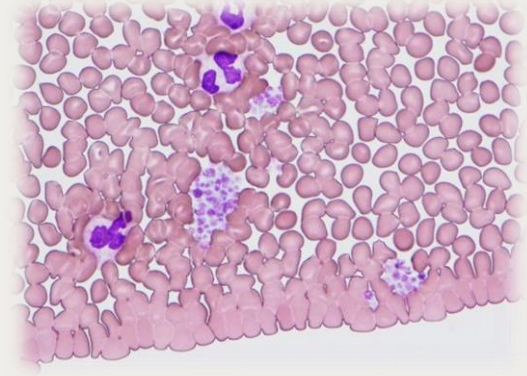
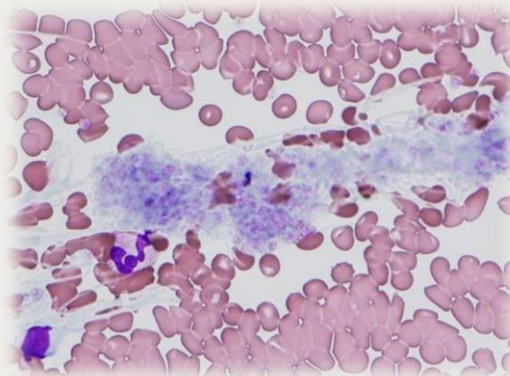
フィールド染色

染色は2～3分で可能
(当院で採用)



普通染色

最後の砦
(必須)



目視確認法：フィールド染色（迅速染色）



- 染色液A：エオシンY
- 染色液B：メチレンブルー

500mL：2,300円

武藤化学株式会社

①固定：メタノール 1～2分



乾燥

②フィールド染色液A 15～20秒



水洗

③フィールド染色液A 20～30秒



水洗・乾燥

④鏡検（目視確認）

血小板凝集・フィブリン析出の有無

染色法	染色時間	染色の特徴
ライト-ギムザ二重染色（普通染色）	20～25 分間	ロマノフスキー効果 (Romanowsky effect) により核、顆粒ともに染色性は良好。
フィールド染色	2～3 分間	主に緊急時に利用される。ライト-ギムザ二重染色と比較して、染色性は劣る。また標本の長期保存には不向きである。

血小板報告までの注意点

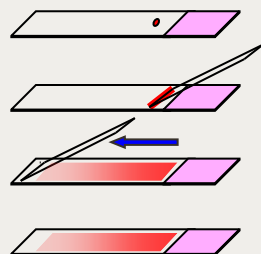
進捗状況

血液像で
最終確認

- コメント付加
- 最終報告



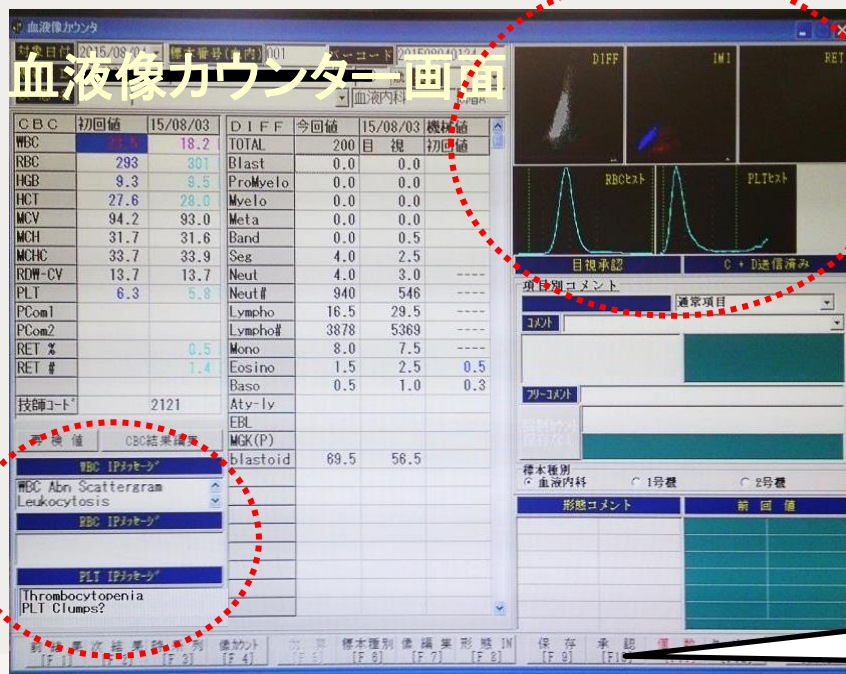
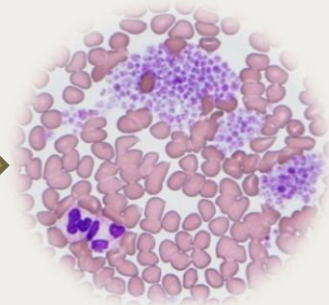
運用・工夫③



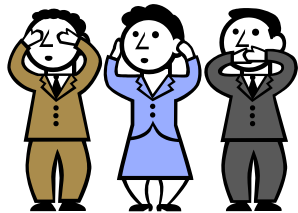
染色



目視



報告までのフローチャート

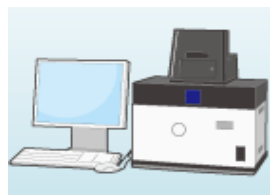


血小板の異常値

【施設で設定】

●再検査基準

●異常報告値



●検体の確認⇒凝固・フィブリン析出・採血量

●機器の確認⇒精度管理・スキャッタグラム確認

●再検査 ⇒再検査値が同じ ≠ 大丈夫はNG!

●検体不良
再採血依頼

前回値:ある

前回値:ない

前回値と比較

変化なし

変化あり

聞く:重要!

電子カルテ

- 患者情報確認(輸血・治療等)
- 他の検査所見と比較

聞く(連絡):担当医へ判断を仰ぐ

OK

再採血

結果報告

凝集
or
凝固
目視確認



理解度セルフチェック

●理解できたものに ☒ を入れて下さい！



- ☐ 血小板についておさらいできましたか？
- ☐ 分析装置の測定原理は理解できましたか？
- ☐ 血小板の誤差要因は理解できましたか？
- ☐ 偽性血小板減少について理解できましたか？
- ☐ 標本上で血小板凝集の観察はできますか？
- ☐ 異常報告値の対処については大丈夫ですか？



ご清聴ありがとうございました

血小板減少例の注意点・・・

