

クロスミキシングテストの参考書

クロスミキシングテスト実施前 に押さえておくべきポイント

山形大学医学部附属病院

結城 智嗣

一般社団法人 日本医療検査科学会
COI（利益相反）開示
筆頭発表者名： 結城 智嗣

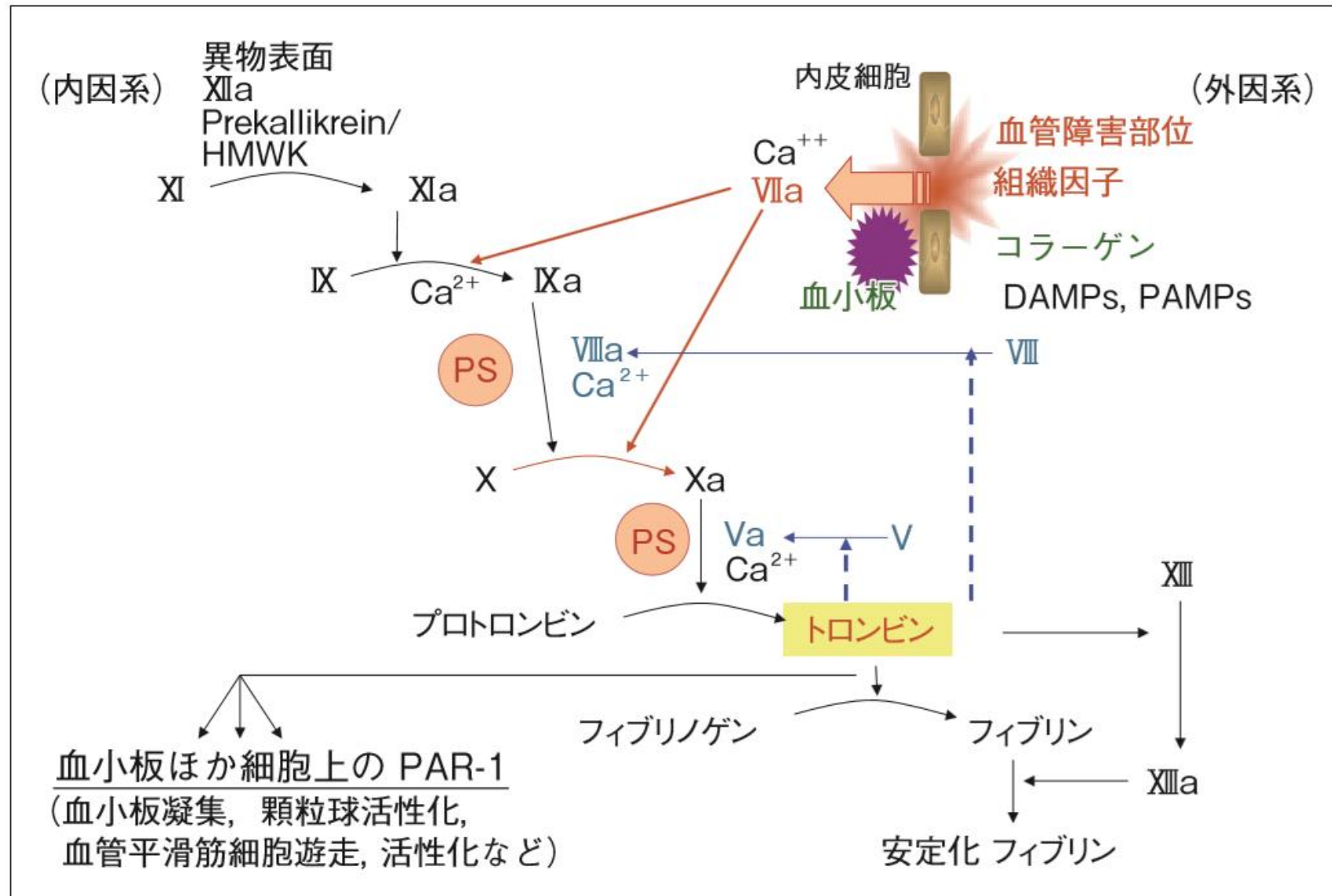
- 演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業等はありません。

凝固カスケード

APTT



延長



PT

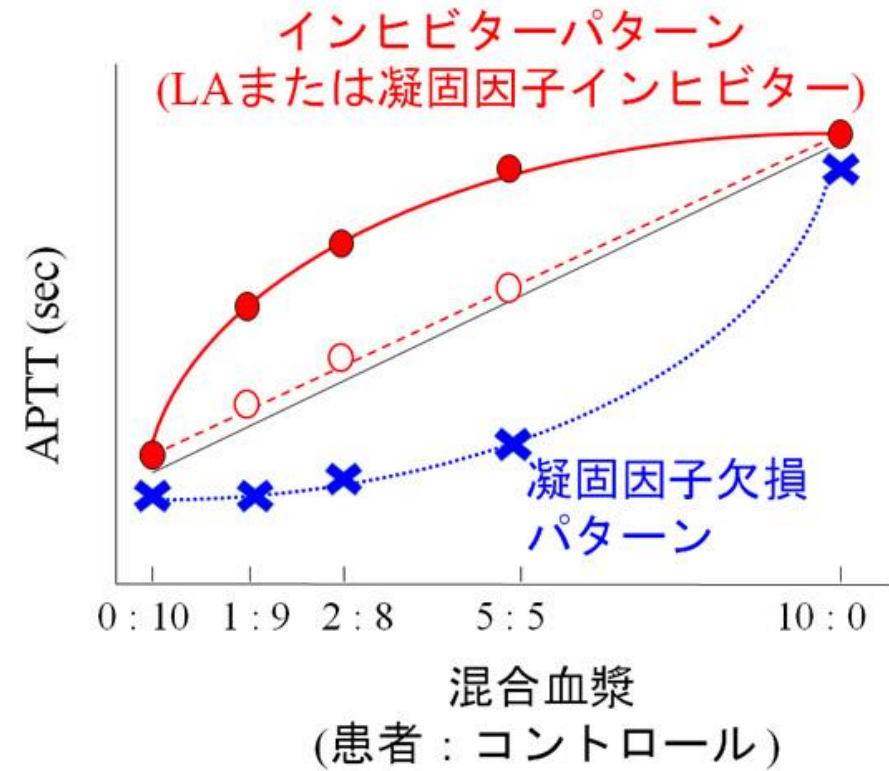


延長

クロスミキシングテスト

凝固時間が延長している患者血漿に正常血漿を混合し補正されるかを見る検査

- ① 混合血漿作成後に直ちに凝固時間を測定する即時反応
- ② 混合血漿を2時間、37℃で加温後に測定する遅延反応

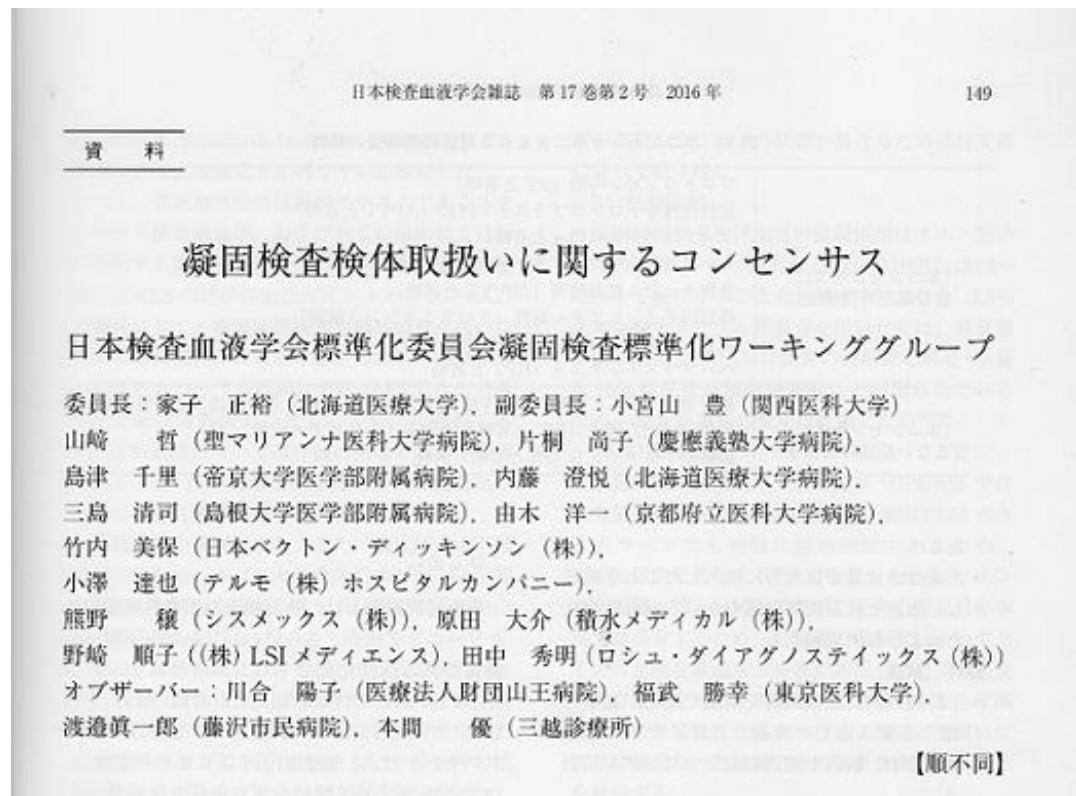


一般社団法人 日本血栓止血学会HPより

正しい結果の解釈のためには
正しい検体の取り扱いが重要！

正しい検体取扱い

2016年に日本検査血液学会雑誌に
凝固検査検体取扱いに関するコン
センサスが掲載



① 採血管

➡ 抗凝固剤、採血量

② 採血

➡ 採血条件

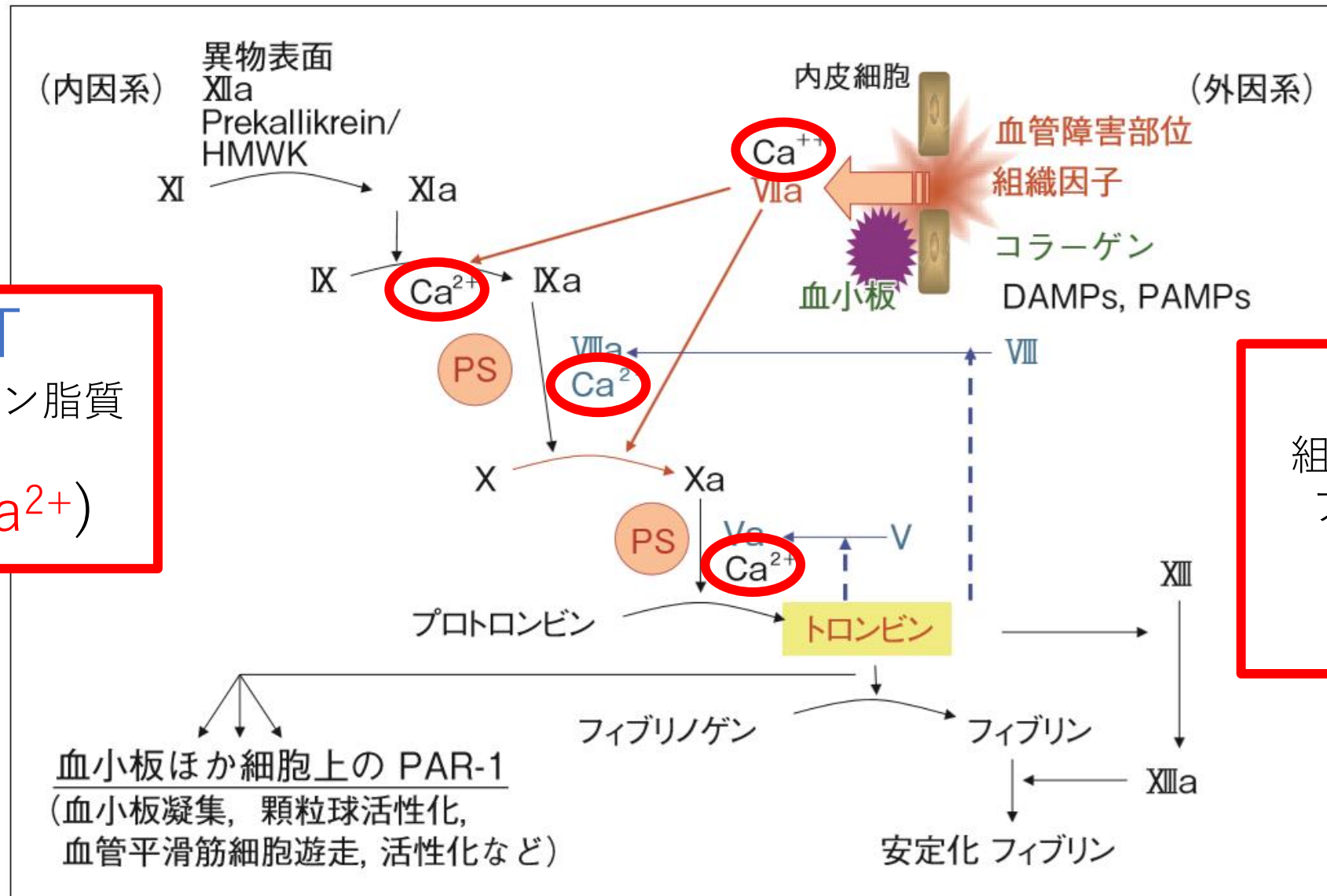
③ 操作（搬送）

➡ 遠心条件

④ 保存と融解

➡ 保存条件、融解条件

凝固時間における Ca^{2+}



APTT

活性化剤 + リン脂質
+

$\text{CaCl}_2(\text{Ca}^{2+})$

PT

組織トロンボ
プラスチン
+

Ca^{2+}

抗凝固剤と採血量

凝固検査における抗凝固剤：3.13～3.2%クエン酸Na

→ Ca^{2+} と錯体を生じることにより検体中の Ca^{2+} を除去

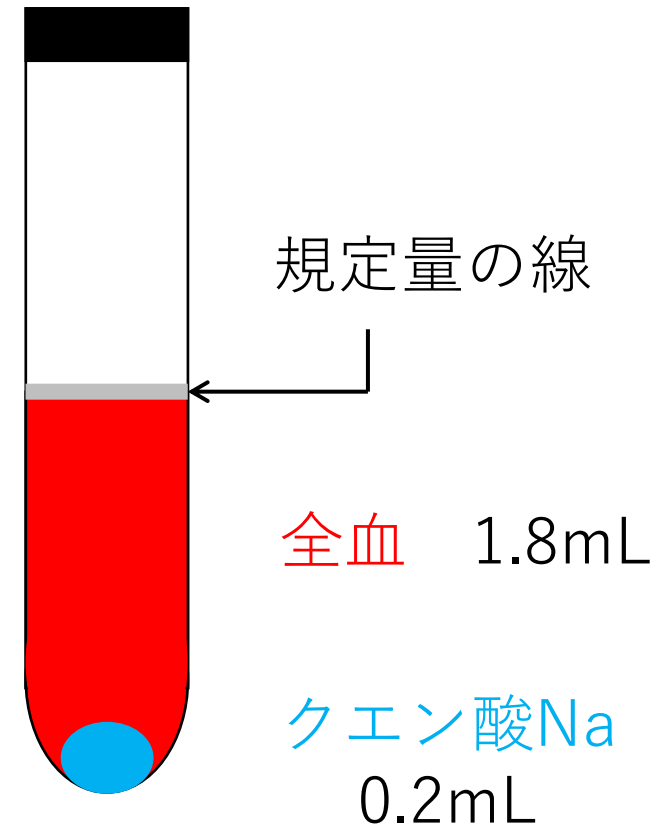
クエン酸Na：全血 = 1：9で混合



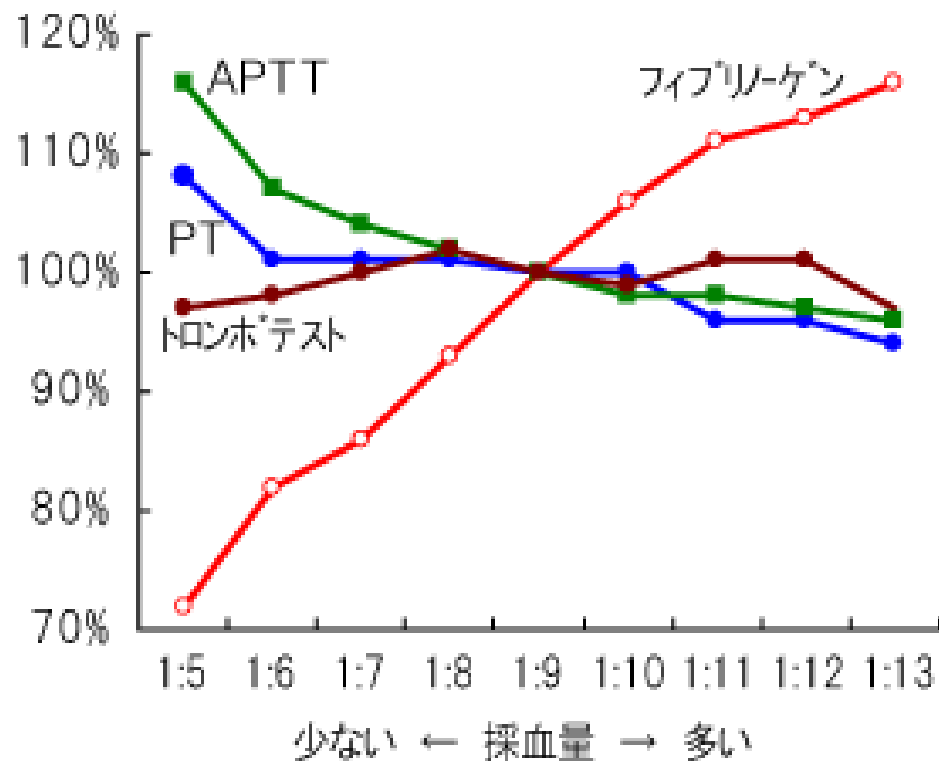
規定濃度になるように調整



規定されている量の血液が必要



採血量による違い



松田 雅子、他：医学検査50(6),2001

-10~+10%が
採血量の許容範囲

採血量が少ない場合
血漿に対する
クエン酸Naが過剰



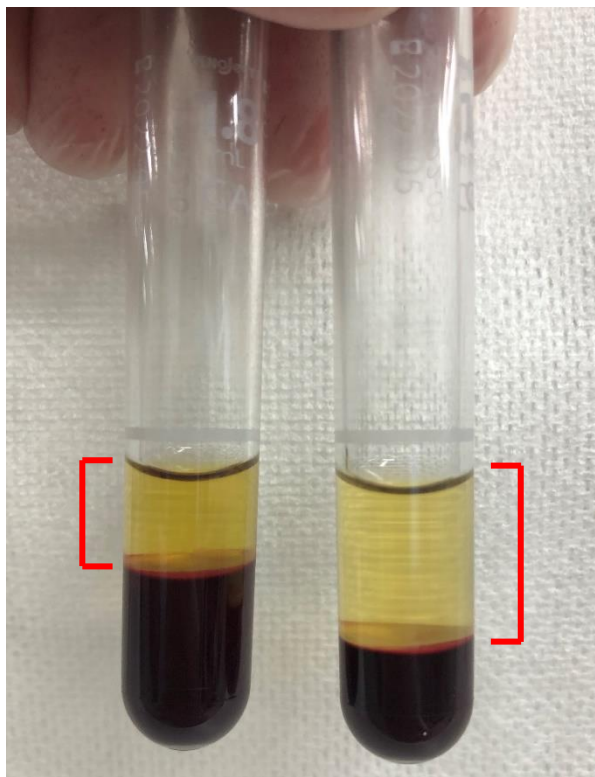
試薬中の Ca^{2+} も
除去してしまう



凝固時間が
真値よりも延長

高ヘマトクリット検体

血漿量が少ないため
クエン酸Naが過剰



Hct 62.3% 38.0%

Hct $\geq 55\%$ の場合

補正式

$$C = (1.85 \times 10^{-3}) \times (100 - \text{HCT}) \times V \text{ blood}$$

C : クエン酸Na溶液量

HCT : 患者ヘマトクリット値(%)

V blood : 採血量



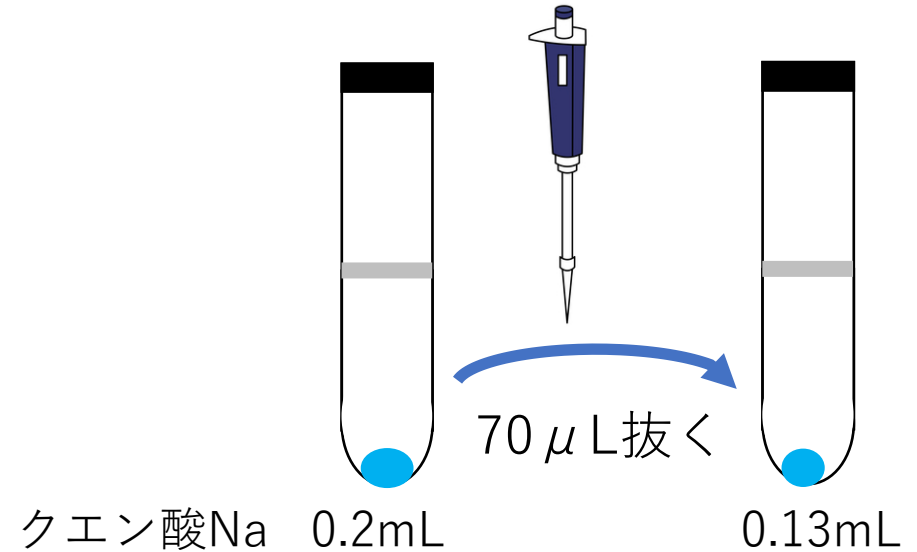
補正式によって
クエン酸Na溶液量を調整する

補正式による調整

例 Hct:62.3%

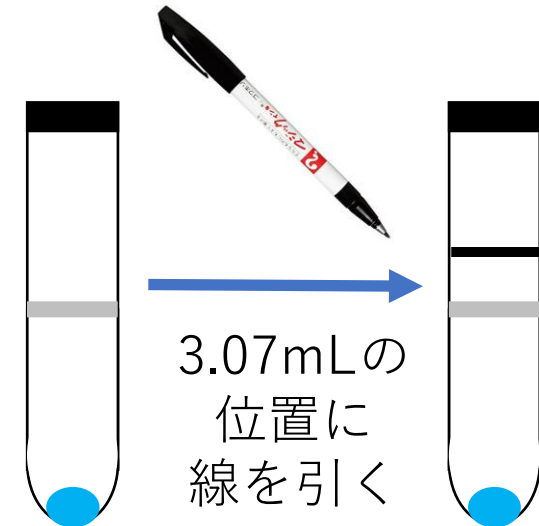
クエン酸Na量を調整する場合

$$\begin{aligned} C &= (1.85 \times 10^{-3}) \times (100 - \text{HCT}) \times V \text{ blood} \\ &= (1.85 \times 10^{-3}) \times (100 - 62.3) \times 1.8 \\ &= 0.13\text{mL} \end{aligned}$$



採血量を調整する場合

$$\begin{aligned} V \text{ blood} &= \frac{C}{(1.85 \times 10^{-3}) \times (100 - \text{HCT})} \\ &= \frac{0.2}{(1.85 \times 10^{-3}) \times (100 - 62.3)} \\ &= 2.87\text{mL} \end{aligned}$$



凝固検査における遠心条件

A) 遠心分離条件

1500 × g以上、15分以上または2000 × g、10分

B) ブレーキの設定

ブレーキの使用は最低限に行うことを推奨

C) 遠心分離時の温度設定

室温（18～25°C）にコントロールすることを推奨

D) 遠心分離機の種類

スイングロータが望ましい

遠心条件の目的

1500 × g以上、15分以上または2000 × g、10分

→ 残存血小板数を 1万/ μ L未満にするため

→ 血小板由来のリン脂質の影響を減らすため

ブレーキは最低限、スイングロータ

→ 血小板を舞い上がらせないようにするため

室温（18～25℃）にコントロール

→ 温度低下による残存血小板数の増加および温度上昇による凝固因子の分解を防ぐため

遠心条件による血小板数の違い

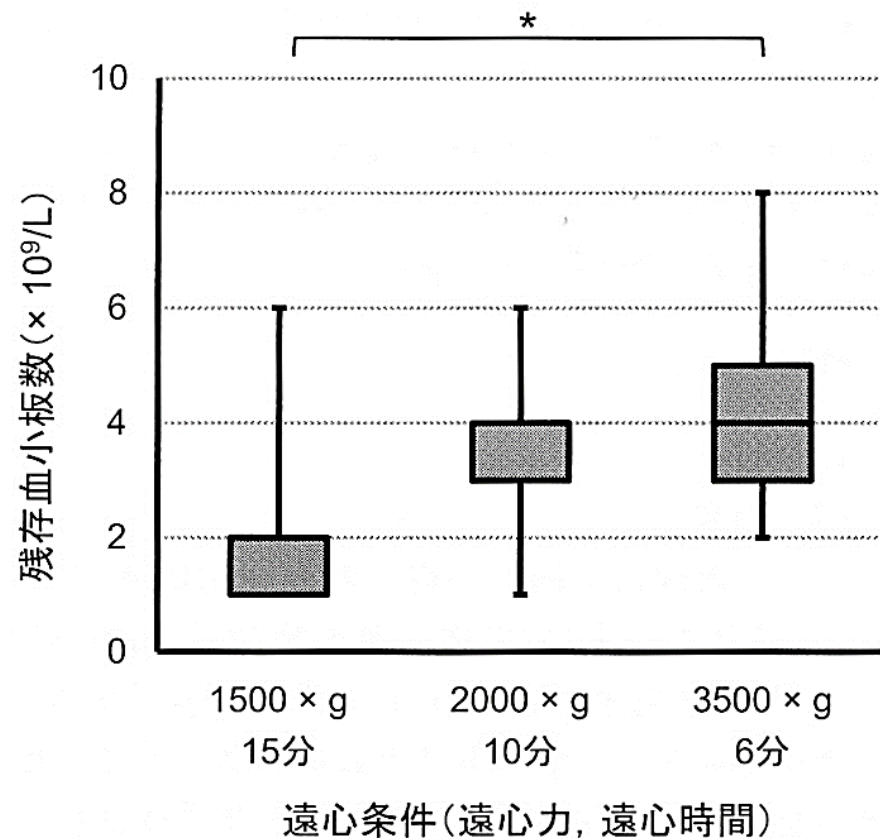


図1. 2 mL 採血管における血漿中残存血小板数に及ぼす遠心条件の影響

採血管は 20℃ の遠心温度で遠心処理した.

* $P < 0.05$.

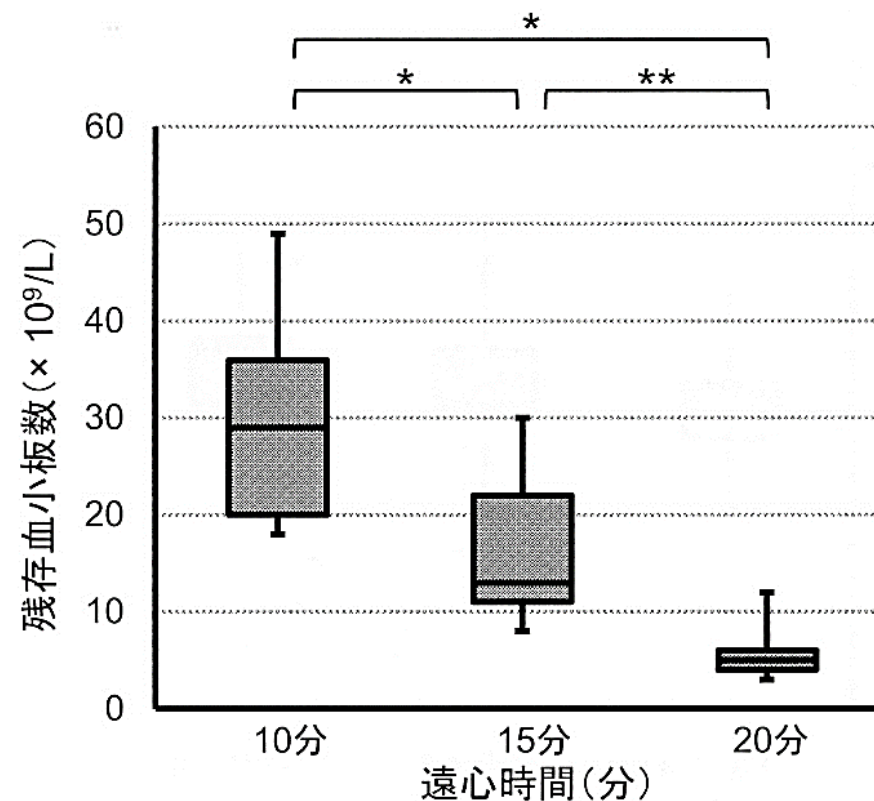


図3. 5 mL 採血管における血漿中残存血小板数に及ぼす遠心時間の影響

採血管は 1,500 $\times$ g の遠心力, 20℃ の遠心温度で遠心処理した.

* $P < 0.001$, ** $P < 0.01$.

血小板数によるミキシングへの影響

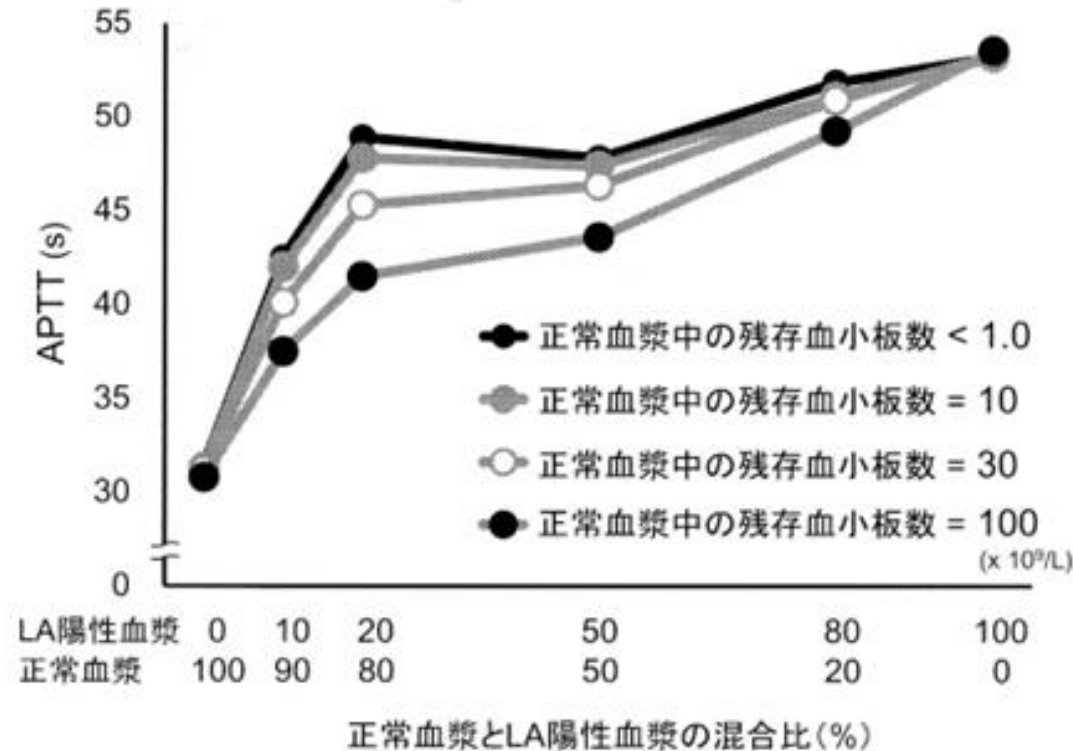


図5. 残存血小板数が異なる正常血漿を用いたLA陽性検体のクロスミキシング試験

松田 将門、他 日本検査血液学会雑誌 21(2) : 136-144, 2020

残存血小板数に
依存してAPTTが短縮



正しい結果解釈が
出来ない



コンセンサスを
しっかりと遵守すべき!!

症例の選別

クロスミキシングテストにより

- ① 凝固因子の欠乏
- ② 凝固因子インヒビター
- ③ ループスアンチコアグラント の鑑別が可能

その他の原因による延長の場合は？



患者情報の参照や種々の検査結果により
ミキシングテストを実施すべき症例の選別を行う

抗凝固薬による影響

薬剤	主な作用因子	PTへの影響	APTTへの影響
ワーファリン	プロトロンビン VII、IX、X	大	小
ヘパリン	トロンビン、Xa	小	大
プラザキサ (ダビガトラン)	トロンビン	小	中
イグザレルト (リバーロキサバン)	Xa	中	小
リクシアナ (エドキサバン)	Xa	中	小

カルテ等で
患者情報を確認



延長の原因となる
薬剤がないかの
確認は重要

ヘパリンの意図しない混入の可能性も考慮すべき



硫酸プロタミン添加による中和試験等での確認が大事

抗生物質による影響

① NMTT基によるビタミンK代謝サイクルの阻害による ビタミンK生合成の抑制

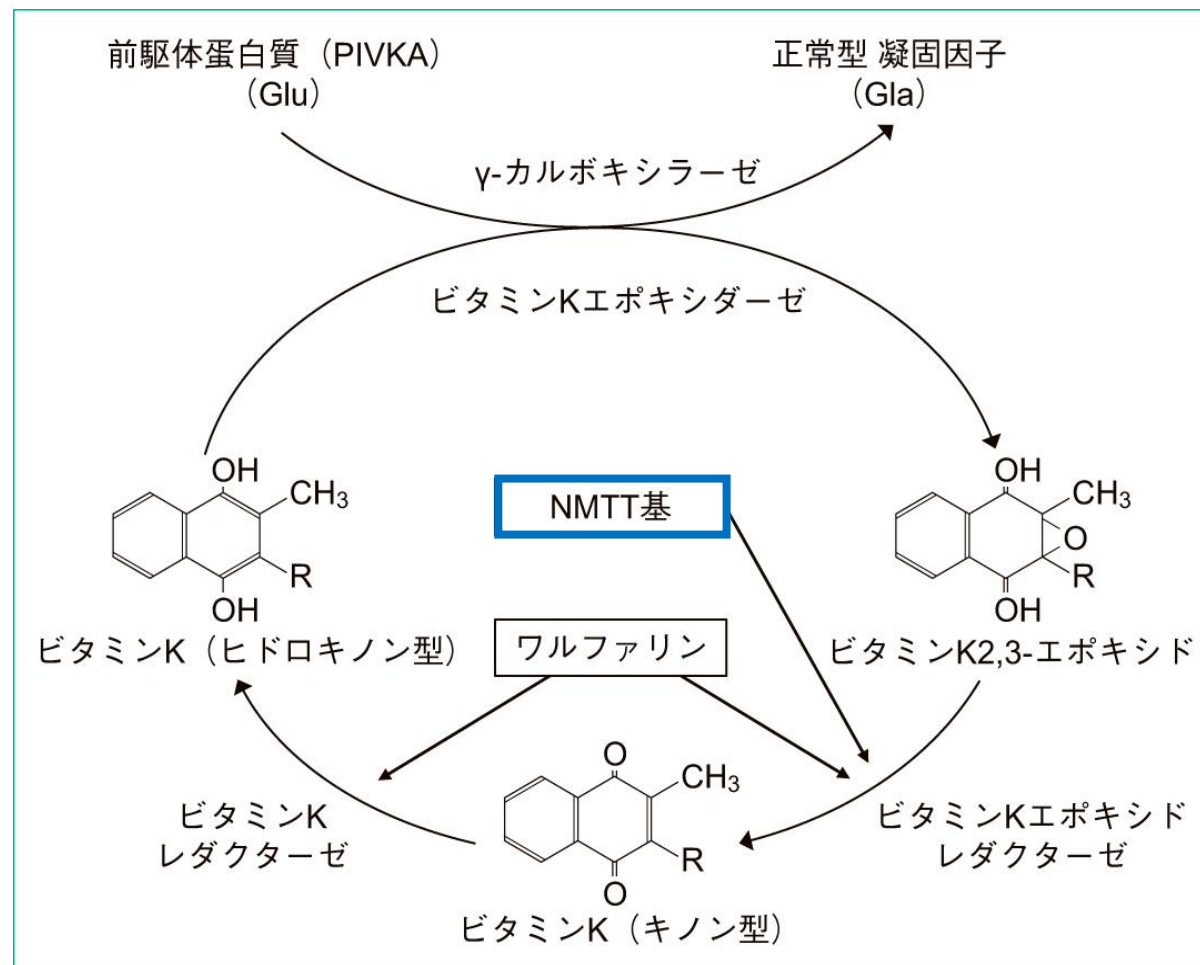
NMTT基



セフェム系抗生物質

- セフィキシム
 - セフジニル
 - セファゾリン
 - セフチゾキシ
- などに含まれる

ビタミンK代謝経路



木村 充、他：医学検査68(4), 2019

抗生物質による影響

② 抗生物質による腸内細菌叢の減少あるいはビタミンK非産生菌への移行



体内の細菌によるビタミンKの産生が減少



それだけではビタミンK欠乏にはなりにくく…

食事量の大幅な減少により食事由来のビタミンKも減少



ビタミンK欠乏に至る



ビタミンK欠乏はPIVKA IIの異常高値で診断できる

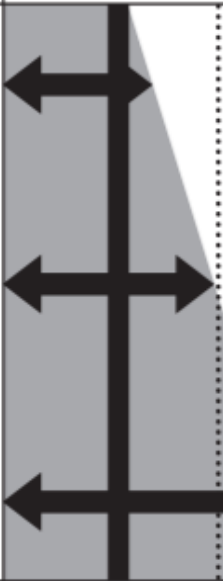
播種性血管内凝固（DIC）

全身性持続性の著しい凝固活性化により細小血管内に微小血栓が多発する病態

凝固活性化とともに線溶活性化がみられる

進行すると、血小板や凝固因子が低下し、消費性凝固障害となる

DICの病型分類

病型	凝固 (TAT)	線溶 (PIC)	症状	D-dimer	PAI	代表的 疾患
線溶抑制型 (凝固優位型)			臓器 症状	微増	著増	敗血症
↑ 線溶均衡型				↑ ↓	↑ ↓	固形癌
↓ 線溶亢進型 (線溶優位型)			出血 症状	上昇	微増	腹部 大動脈癌 APL

播種性血管内凝固 (DIC)

日本血栓止血学会 DIC診断基準 2017年版

項目		基本型		造血障害型		感染症型	
一般止血検査	血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	12< 8< ≤12 5< ≤8 ≤5 24時間以内に 30%以上の減少 (※1)	0点 1点 2点 3点 +1点			12< 8< ≤12 5< ≤8 ≤5 24時間以内に 30%以上の減少 (※1)	0点 1点 2点 3点 +1点
	FDP ($\mu\text{g/mL}$)	<10 10≤ <20 20≤ <40 40≤	0点 1点 2点 3点			<10 10≤ <20 20≤ <40 40≤	0点 1点 2点 3点
	フィブリノゲン (mg/dL)	150< 100< ≤150 ≤100	0点 1点 2点	150< 100< ≤150 ≤100	0点 1点 2点		
	プロトロンビン時間比	<1.25 1.25≤ <1.67 1.67≤	0点 1点 2点	<1.25 1.25≤ <1.67 1.67≤	0点 1点 2点		
分子マーカー	アンチトロンビン (%)	70< ≤70	0点 1点	70< ≤70	0点 1点	70< ≤70	0点 1点
	TAT, SFまたはF1+2	基準範囲上限の 2倍未満 2倍以上	0点 1点	基準範囲上限の 2倍未満 2倍以上	0点 1点	基準範囲上限の 2倍未満 2倍以上	0点 1点
肝不全(※2)		なし あり	0点 -3点	なし あり	0点 -3点	なし あり	0点 -3点
DIC 診断		6点以上		4点以上		5点以上	

FDP $\geq 20 \mu\text{g/mL}$ であればDICの可能性大!!

TAT、SFともに正常であればDICは否定

肝障害

凝固因子の大半が肝臓で生成



肝硬変や劇症肝炎による
肝不全では生成低下



複合的な凝固因子欠乏を呈する



PT、APTTともに延長するが
PTが鋭敏に反映される



生化学検査も含めた
横断的な結果解釈が重要！

凝固時間延長の原因

① 血漿量の影響

→ 検体量、ヘマトクリット問題なし

② 薬剤の影響

→ 抗凝固薬、抗生剤の使用なし
ヘパリン混入なし

③ 病的な凝固障害

→ 血栓形成、線溶マーカー上昇なし、肝障害なし



クロスミキシングテスト

まとめ クロスマキシングテスト実施前

- クロスマキシングテストの正しい結果解釈には正しい検体の取り扱いが重要である。
- 凝固検査検体取扱いに関するコンセンサスを十分理解し、遵守すべきである。
- クロスマキシングテストを実施すべき症例を適切に選別する必要がある。



ご清聴ありがとう
ございました

山形 山寺から見える紅葉