

愛知県臨床検査標準化ガイドライン

「CBC の誤差要因と対策」

第 1 版
平成 25 年 3 月

愛知県臨床検査標準化協議会

AiCCLS : Aichi Committee for Clinical Laboratory Standardization

発刊によせて

愛知県臨床検査標準化協議会

会 長 伊藤 宣夫

近年、医療を取り巻く環境は益々厳しく、医療費の増加を抑制すべく保険制度は度々見直され、医療現場への市場経済の圧力は年々強まる状況となっています。また EBM（Evidence Based Medicine）への準拠や予防医学上のエビデンスを背景として医療費抑制効果を目指す医療行為に対しては手厚い診療報酬が与えられ、我々医療関係者にはそれらを意識した医療の提供が求められています。

この状況の下に特定健診や特定保健指導が開始され、臨床検査の標準化とそれに伴う検査の質向上が一層求められています。施設の規模に関わらず、どの医療機関で検査を受けても同じデータによる診療が受けられることが望まれ、国民が標準化された医療サービスを受けられることが期待されています。

これまで愛知県臨床検査標準化協議会では 9 冊のガイドラインを発行してきました。今回この標準手引書では、大規模な基幹病院のみならず規模の小さな施設においても、血液検査特有の誤差要因に対応できる対処法を記してあります。この誤差要因に遭遇した場合であっても、本書に基づき正しい検査データを提供することにより医療の質向上に寄与するものと思われます。

以上の趣旨のもと、この手引書を広く県下臨床検査機関にて利用していただきますようお願い致します。

2013年3月

はじめに

近年、自動血球分析装置の進歩は目覚ましく、迅速かつ正確に大量の検体処理が可能となってきている。しかし、自動血球分析装置による血球算定には測定原理による因子、採血手技による因子、患者の病態による因子など様々な誤差要因が存在し、その測定結果をそのまま報告した場合、臨床判断に狂いが生じる可能性がある。そのため、自動血球分析装置を使用する際には、これらの誤差要因の発生機序を理解し適切な対応をしなければならない。

一方、検査室においては医療経済効果の効率化が求められている。このため、血液検査室に十分な人員配置が行われず他部門と掛け持ちで業務を行う施設が増えている。血液検査の知識を十分習得していないと誤差要因に直面した場合、正しい検査結果を提出できるのか不安を抱えているのではないだろうか。

本書では、日常よく遭遇する誤差要因とその対処方法を記述した。血液検査に携わる臨床検査技師の皆さんが本書を利用し正確な血球計数値を提供することで臨床に貢献することを期待する。

目 次

	頁
I. 誤差要因と対策	1
1. 白血球	1
1) 臨床的意義	1
2) 測定時の注意点と誤差要因の対処法	1
2. 赤血球系	3
1) 臨床的意義	3
2) 赤血球指数	3
3) 測定時の注意点と誤差要因の対処法	3
3. 血小板	6
1) 臨床的意義	6
2) 測定時の注意点と誤差要因の対処法	6
3) 血小板数算定方法（直接法・間接法）	9
II. 血球計数の基礎	11
1. 測定の原理	11
1) 血球計数と容積	11
2) ヘモグロビン測定	12
2. 血液検査基準分析法（参照法）	12
3. 採血と抗凝固剤	13
1) 採血	13
2) 抗凝固剤	13
4. 検体の保存管理	14
5. 生理的変動	14
1) 白血球	14
2) 赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット	14
3) 血小板	15
III. 参考文献	16

I. 誤差要因と対策

1. 白血球

1) 臨床的意義

白血球は生体防御を担う細胞であり、正常末梢血には好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球および単球の5種類の細胞が見られる。白血球数(WBC)増減の臨床的意義は、それぞれの細胞の機能が異なるため、どの細胞の増減であるかにより異なってくる。

白血球の生理作用を下記に示す^{1, 2)}。

好中球：炎症巣の細菌や異物を貪食し消化処理をする。末梢血中滞留時間は約10~12時間である。

好酸球：種々のアレルギー反応に関係している。貪食能、遊走能を有するが、好中球に比べれば弱い。好酸球は末梢血中に約24時間滞留すると考えられている。

好塩基球：種々のアレルギー反応に際して、脱顆粒しヘパリンやヒスタミンを放出する。I型過敏症や炎症反応に関与するとされている。

単球：きわめて活発な遊走能や貪食能をもち、組織内に遊走しマクロファージに転化する。

リンパ球：T細胞、B細胞およびNK細胞に大別される。T細胞は細胞性免疫の中心的な役割を果たし、B細胞は液性免疫に主要な役割を果たす。NK細胞は非特異的なキラー活性を示す。

WBCは個人差が大きく、基準範囲の設定は難しい。白血球減少は、一般にWBC 3,000個/ μ L以下を指す^{3, 4)}。成人の好中球減少とは好中球数 1,500個/ μ L以下を指す⁵⁾。

白血球増加は、成人では一般に末梢血WBCが10,000個/ μ L以上を指す^{3~5)}。成人の末梢血好中球増加とは好中球数 7,000~8,000個/ μ L以上、リンパ球増加とはリンパ球数 4,000個/ μ L以上、単球増加とは単球数 950~1,000個/ μ L以上、好酸球増加とは好酸球数 300~500個/ μ L以上を指す^{5, 6)}。

2) 測定時の注意点と誤差要因の対処法

現在、WBCを含めた血球数算定には自動血球分析装置が使用されており、正常な細胞形態や細胞分布を示す検体においては精密度、正確度の高いデータが得られる。しかし、異常な細胞形態やアーチファクト等が存在するときはその正確度は低下し、最終的には目視法での確認が必要となる。自動血球分析装置によるWBC測定に影響を与える要因を下記に示す⁷⁾。

偽高値：クリオグロブリン、M蛋白、有核赤血球、血小板凝集、赤血球溶血不十分 偽低値：白血球凝集、スマッジ細胞、凝血
--

これらの影響は電気抵抗方式と光学的測定方式のいずれの測定方式においても見られる現象であり、

電気抵抗方式ではヒストグラムに光学的測定方式ではスキャットグラムに正常パターンとは違う変化が見られる。ほとんどの機種でサスペクトフラッグ等の警告が発せられるが、変化が軽微の場合は警告がでないこともある。そのため、自施設の自動血球分析装置の測定原理および測定値に影響があるヒストグラムまたはスキャットグラムの変化を把握する必要がある。これらに変化が見られた場合は、視算法にて WBC を算定しなければならない。

(1) 血小板凝集等の確認方法

普通染色を用いた血液像で確認することが可能であるが、超生体染色（ニューメチレン青染色液等）を用いると迅速かつ簡便である。

(2) 視算法⁸⁾

従来、視算法には白血球用メランジュールが用いられていたが、感染の危険性があるためマイクロピペットを用いる方法を推奨する。

器具：小試験管、マイクロピペット（100 μ L、900 μ L が採取可能なもの）、チップ、血球計算板（ピケルーチュルク型）、顕微鏡、数取り器

希釈液（チュルク液）：

〔 1%ゲンチアナ紫水溶液 1.0mL 〕
〔 氷酢酸 1.0mL 〕

蒸留水を加えて 100mL とする。

【注意】氷酢酸は赤血球を溶血させるために使用する。液が古くなり酢酸が蒸発すると溶血不十分となるため白血球の視算は困難となる。

操作

- ①計算板にカバーガラスを掛ける。その際、必ずニュートンリングができていることを確認する。
- ②チュルク液をマイクロピペットで900 μ L 採り、小試験管に分注する。
- ③よく混和した血液を100 μ L 採り、②の小試験管に泡が立たないように分注し混和する。
- ④5～15分間放置後、静かに混和し、計算板に流し入れる。
- ⑤約5分後、白血球が沈んでから顕微鏡の倍率10 \times 10または10 \times 20で計算板の大区画（1mm²）4箇所の白血球を数え、その平均値を100倍する。

【注意】赤芽球が出現している場合、計算板上では白血球との鑑別は困難である。そのため、血液像にて赤芽球出現率（/100WBC）を求め、次式にてWBCの補正を行う⁷⁾。

$$\text{補正 WBC (個/}\mu\text{L)} = \frac{\text{実測 WBC} \times 100}{\text{赤芽球出現率 (}/100\text{WBC)} + 100}$$

2. 赤血球系

1) 臨床的意義

赤血球系において検査異常値を示す病態で重要なものは、主に貧血と赤血球増加症がある。貧血とは、末梢血中のヘモグロビン濃度が基準値以下に低下した状態をいう。

WHO(世界保健機構:World Health Organization)の基準によると、健常成人男性では 13.0g/dL 未満、成人女性では 12.0g/dL 未満、妊婦では 11.0g/dL 未満と定義されている⁹⁾。

赤血球増加症は、末梢血中の赤血球数、ヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が増加した状態であり、絶対的赤血球増加症と相対的赤血球増加症に分けられる。

2) 赤血球指数

赤血球指数とは、赤血球の大きさとそこに含まれるヘモグロビン量や濃度を、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度(Hb)およびヘマトクリット値(Ht)を用いて計算された値であり、以下のような式で求められる¹⁰⁾。

(1) 平均赤血球容積(MCV)

$$\text{MCV (fL)} = \frac{\text{Ht (\%)} \times 10}{\text{RBC (10}^6/\mu\text{L)}}$$

(2) 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 10}{\text{RBC (10}^6/\mu\text{L)}}$$

(3) 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)

$$\text{MCHC (\%)} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 100}{\text{Ht (\%)}}$$

3) 測定時の注意点と誤差要因の対処法

赤血球系で自動血球分析装置の誤差要因を見つけるには、MCHC が参考になる。MCHC は、Hb と Ht により算出され Hb の溶解度から通常は 37%以上になることはない¹¹⁾。MCHC が正常域より高くなる例は、新生児や遺伝性球状赤血球症とされている¹²⁾。これら以外に MCHC が 37%以上になった場合、RBC、Hb および Ht のどれかに誤差が生じていることが推測される。対処法については図 1 に示す¹³⁾。

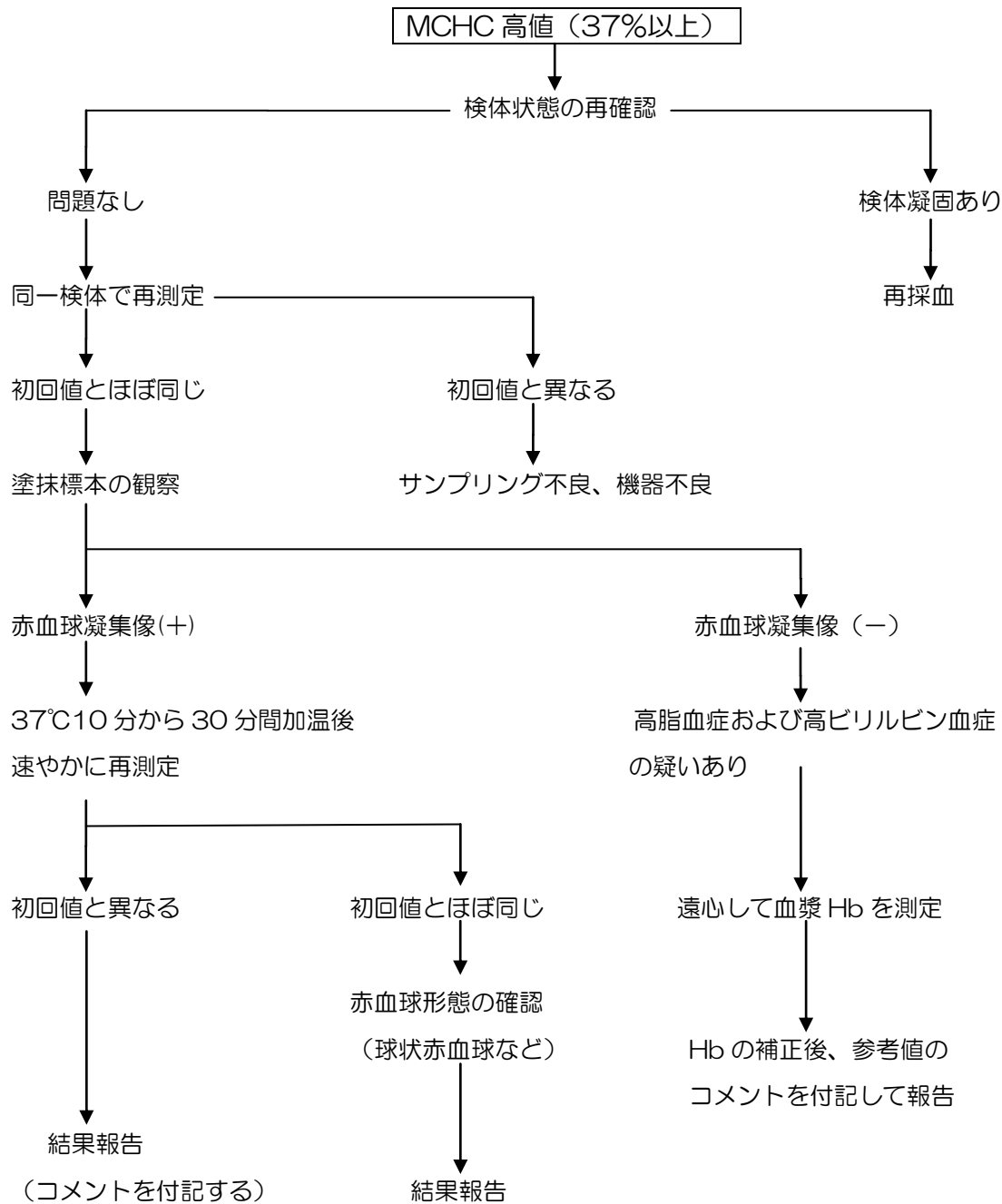


図 1 MCHC 異常高値の確認事項と誤差要因の対処法

(1) 採血不良による凝固、溶血および混和不足

凝固検体や溶血検体では、RBC や Ht は偽低値になる。検体の混和不足のため血液が均一にならず、正しい測定値が得られない危険性がある。

(2) 高ビリルビン血症および高脂血症

Hb の測定は比色法なので、ビリルビンが高い検体や乳びが強い検体では Hb が偽高値となり、MCH や MCHC が偽高値を示す。

【対処法】①検体の一部を遠心し、その血漿の Hb を測定する。

②次式で Hb を補正して、MCH、MCHC を再計算して報告する。

$$\text{補正 Hb} = \text{全血 Hb} - (1 - \text{Ht}) \times \text{血漿 Hb}$$

* 報告書には、参考値としてコメントを付記することが望ましい。

(3) 寒冷凝集

寒冷凝集素症やマイコプラズマ肺炎など寒冷凝集素が高い症例では、赤血球が凝集して RBC や Ht が偽低値となる。しかし、Hb は影響を受けないため、MCV、MCH および MCHC が偽高値となる。図 2 のように管壁にざらつきが確認できるときは、寒冷凝集素が高いことが多い。また、血液像では赤血球の凝集が認められる (図 3)。

自己免疫性溶血性貧血 (AIHA) では赤血球凝集や球状赤血球が見られるが、赤血球凝集は加温しても解離しないため、コメントを付記して報告する¹⁴⁾。

【コメント例】 検体を加温して測定しましたが、赤血球凝集を認めます。

【対処法】 検体を 37°C、10 分間加温し、ただちに再測定する。それでも改善が見られない場合は、加温を延長して再測定する。

(4) その他

- ①機種によっては、MCV が血清浸透圧の影響を受けることもある¹⁵⁾。血清浸透圧が著しく変化する尿崩症などでは前回値と大きく変動することもあり注意する必要がある。
- ②赤血球膜硬化がおきる疾患 (肝疾患患者など) では健常者に比し希釈液中で膨化の程度が低い
ため、MCHC が高くなる可能性がある。

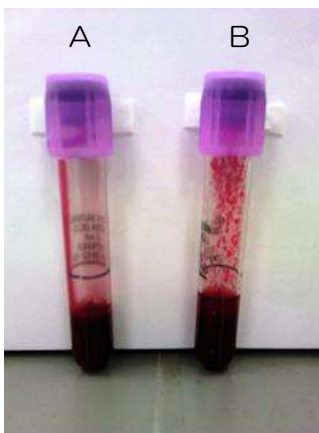


図 2 寒冷凝集

A 通常の検体

B 寒冷凝集素価の高い検体

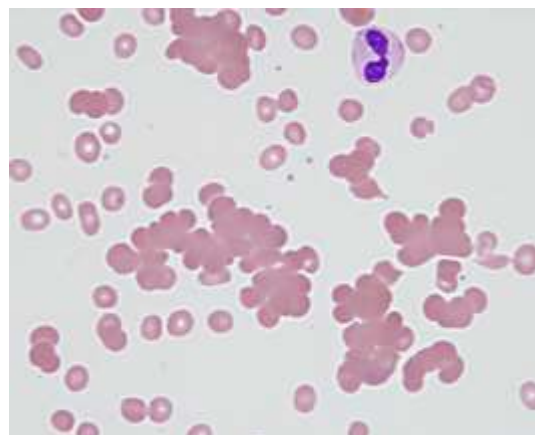


図 3 赤血球凝集像

3. 血小板

1) 臨床的意義

血小板は直径 2~4 μm の小さな細胞で、血管損傷時の止血機構に重要な役割を果たしている¹⁶⁾。従って、血小板数 (PLT) の減少は即ち出血傾向に結びつく。一般に PLT が 5 万/ μL 以上では、血小板減少による出血を認めることは少ないが、それ以下では、出血傾向を認めることが多い^{17, 18)}。3 万/ μL 以下では手術や外傷での止血が困難になり、1 万/ μL 以下では自然出血が生ずる^{18, 19)}。血小板輸血の実施を決定するうえで、PLT の報告には、迅速性、正確性および精度の向上が求められている。

2) 測定時の注意点と誤差要因の対処法

PLT 測定にはさまざまな誤差要因が存在する。正しいデータを報告するためには、誤差要因を理解し適切に対応しなければならない。PLT が正確に測定されていない多くの場合は、粒度分布曲線を確認することで発見できる。通常、血小板の粒度分布曲線は左右非対称で、図 4a のような曲線である。粒度分布曲線が、図 4b のような場合は、偽高値や偽低値が考えられる為、その原因を確認する必要がある。

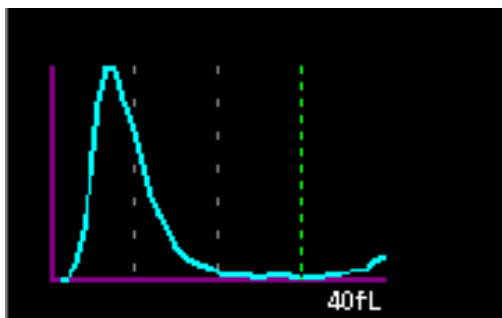


図 4a 通常の血小板粒度分布曲線

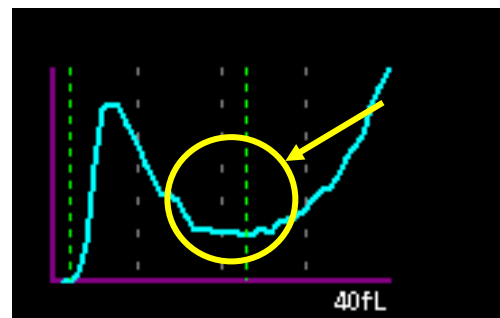


図 4b 異常な血小板粒度分布曲線
(矢印部分が基線よりも上昇している)

PLT が低値あるいは前回値と大きくかけ離れている場合や、血小板粒度分布曲線の異常がみられた場合の対処法¹³⁾ について、図 5 にまとめた。

また、機種によっては白血球の粒度分布曲線で立ち上がりの部分が基線から上昇していることもある¹³⁾ (図 6 の矢印部分)。このような場合には、同時に測定機器から「PLT Clump」など血小板凝集を疑うフラグメッセージが出ていることがあるので注意する。上記のような異常が見られた場合、まず検体の凝固があるかどうかを再確認することである。凝固していなければ再検し、同じデータが得られた場合は塗抹標本を観察してフィブリンの析出 (図 7)、血小板凝集塊 (図 8a)、巨大血小板 (図 9) および破碎赤血球 (図 10) がないかどうか確認する。なお、未染色の標本でも顕微鏡のコンデンサを下げれば観察できる (図 8b)。フィブリンの析出があった場合は再採血する。

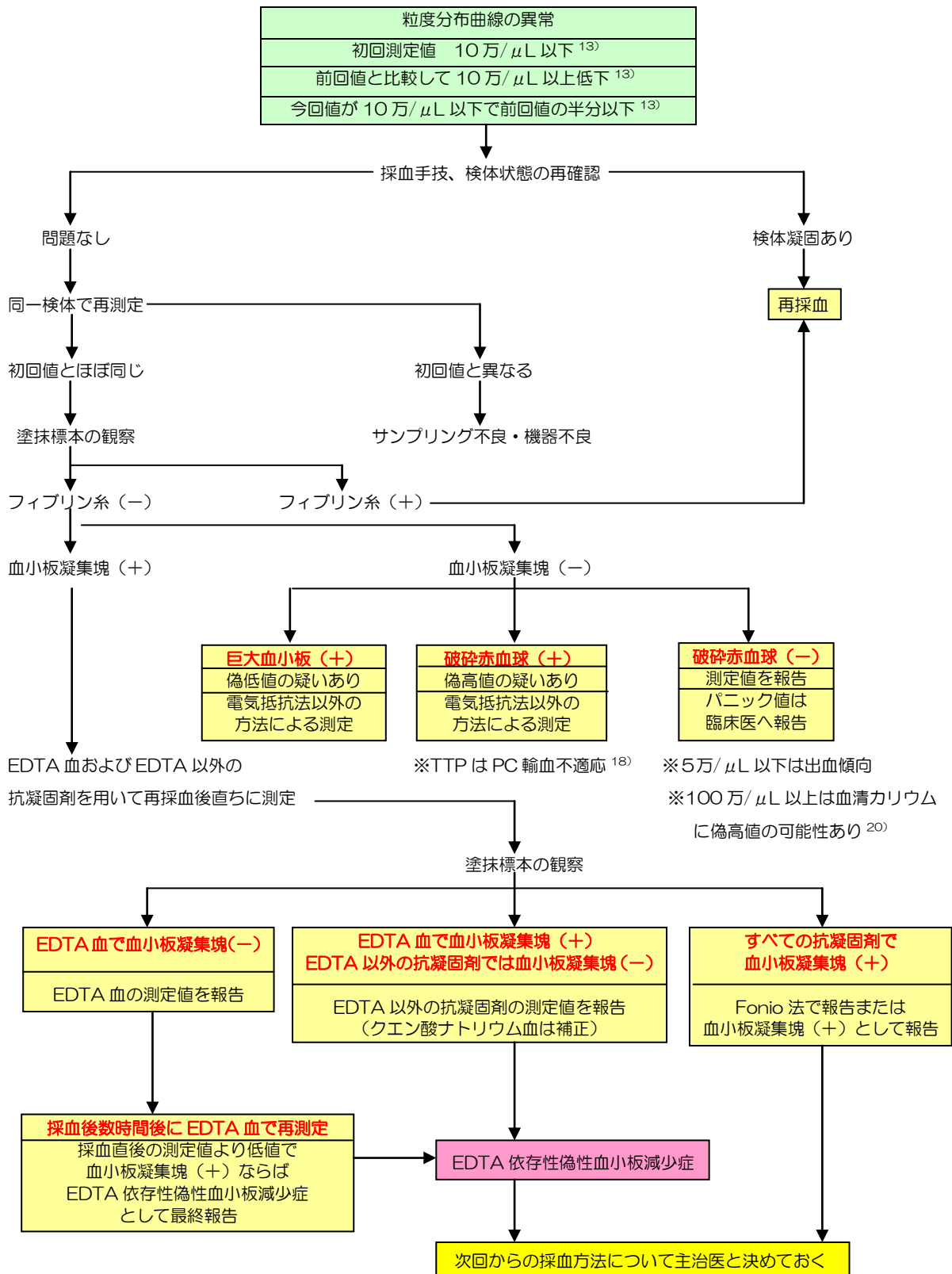


図 5 血小板数測定時の注意点と誤差要因の対処法

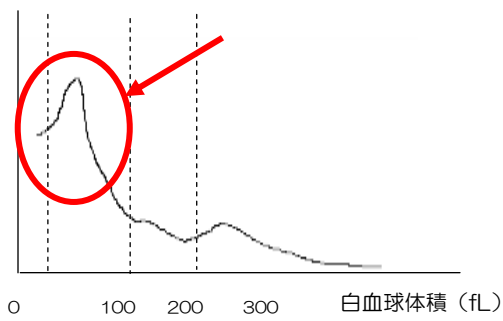


図6 白血球粒度分布曲線

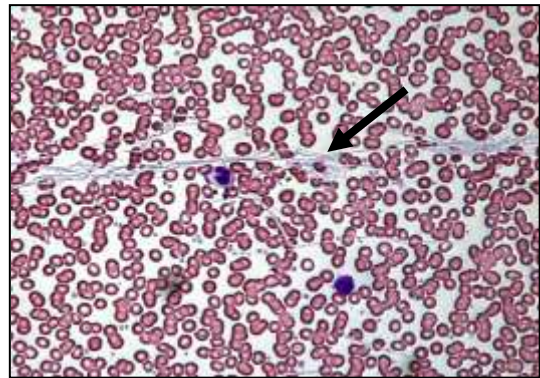


図7 フィブリン糸

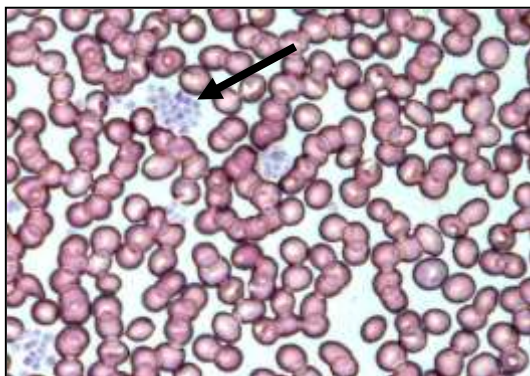


図8a 血小板凝集塊

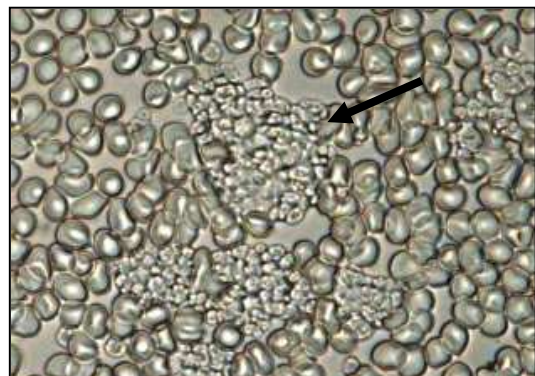


図8b 未染色での血小板凝集塊

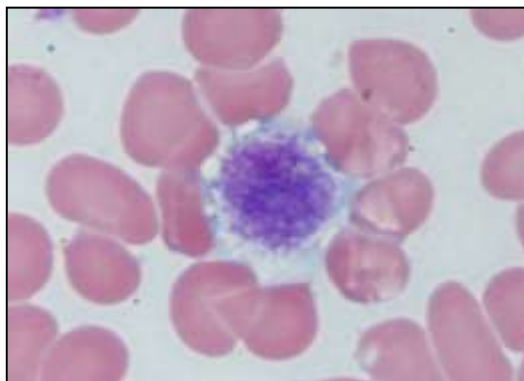


図9 巨大血小板

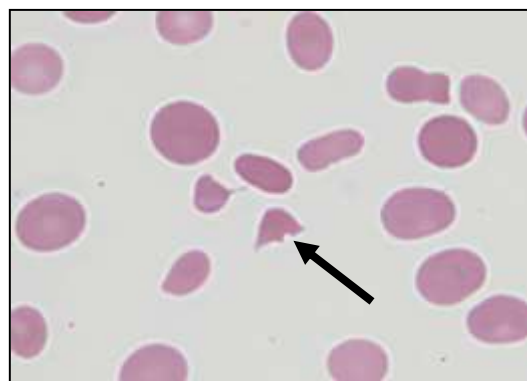


図10 破碎赤血球

血小板凝集塊があった場合は、EDTA 依存性偽性血小板減少症の可能性があるので、EDTA 血の採血管と、EDTA 以外の抗凝固剤の採血管の両方とも再採血し、直ちに測定する。EDTA 血で血小板凝集塊がなければそのまま測定値を報告するが、EDTA 依存性偽性血小板減少症の場合は採血後時間経過とともに PLT が減少する¹⁶⁾ ので、数時間後に再度測定して PLT が減少しているかどうかを確認する。EDTA 血で血小板凝集塊があり EDTA 以外の抗凝固剤で血小板凝集塊が見られなかった場合は、後者のデータを報告する。ただし、クエン酸ナトリウムなどの液体の抗凝固剤を使用した場合は希釈されているので補正して報告する。また EDTA 以外の抗凝固剤であるコメントを付記する。すべての抗凝固剤で血小板凝集塊を認めた場合は、Fonio 法で報告するか血小板凝集塊 (+) と報告する。

巨大血小板があった場合は偽低値の疑いがあり、破碎赤血球があった場合は偽高値の疑いがあるの

で^{13, 19)}、電気抵抗法以外の方法（フローサイト法あるいは視算法など）で測定する。また破碎赤血球が多数出現する疾患に血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）があるが、血小板輸血をすると症状の悪化をみることがあるので、原則として血小板輸血の適応とはならない¹⁸⁾。

顕微鏡下でフィブリンの析出、血小板凝集塊、巨大血小板および破碎赤血球が見られなかった場合は、測定値を報告する。パニック値は各施設で臨床医と相談して決めていくことが望ましいが、一般に低値は5万/ μL 以下、高値は100万/ μL 以上と言われている¹⁹⁾。5万/ μL 以下は出血傾向を認めることが多く、100万/ μL 以上では血清カリウム値が偽高値となる²⁰⁾可能性があるので注意が必要である。

以上、PLTを正しく報告するための注意点を述べた。自動血球分析装置の進歩に伴い多くの情報が得られるようになったが、測定メカニズムを正しく理解し、粒度分布曲線の異常やフラグメッセージを見逃さないようにしないと、正しい血小板の算出は難しい。特に、PLTが低下している場合は、検体凝固によるものなのか血小板凝集によるものなのか、それ以外の要因によるものなのかを鑑別するために、顕微鏡下での観察は必要不可欠である。

3) 血小板数算定方法（直接法・間接法）

（1）Brecher-Cronkite法²¹⁾（直接法）—スタンダード検査血液学から抜粋—

器具および試薬：マイクロピペット、血球計算板、希釈液（1%シュウ酸アンモニウム液）、
位相差顕微鏡

希釈液は調整後冷所保存する。使用時に必要量だけ濾過をして小瓶に小分けして使う。

- ① プラスチックのチューブに希釈液を950 μL 分注する。
- ② 血液を十分混和してから50 μL 分取し、希釈液に加え（20倍希釈）十分混和する。
- ③ 希釈血液を計算板に流し込む。
- ④ 血球計算板を水平に保ち乾燥しないように湿潤箱に入れ、血小板が沈降するまで約10～15分間静置後、位相差顕微鏡にて中央の中区画5個の血小板を数え合計した数を1,000倍すれば血液1 μL 中の血小板数となる。中区画1辺の長さは0.2mm、面積は0.04 mm^2 および深さ0.1mm

を計算式に当てはめると、血小板を数えた希釈液の容積は、

$$0.04 \times 5 \times 1/10 = 1/50 (\mu\text{L})$$

となる。血液の希釈倍数は20倍となっているから、血液1 μL 中の血小板数を求めるためには1,000倍すればよい。

【注意】PLTが低値の時は、中央の大区画を数え、200倍としたほうがより信頼性が増す。位相差顕微鏡はmedium dark contrastの40倍を用い、接眼レンズは10倍とする。血小板は円形または楕円形の小体として、位相差で用いる緑色フィルターで黒色の、灰色フィルターでは淡紫色の輝きを有するので、ゴミとは容易に区別ができる。血小板は、他の血球に比べ長めの静置時間が必要で、計算室が乾燥しないように湿潤箱に入れておくとよい。

(2) Fonio 法²²⁾ (間接法) —臨床検査法提要第 33 版より抜粋—

試薬：滅菌 14%硫酸マグネシウム液 (自動血球計数装置の異常値の確認では 14%硫酸マグネシウム液ではなく滅菌生理食塩水でよい)

器具：血液薄層塗抹標本作製用品一式

小さなガラス棒 (滅菌済みのもの)

- ① 耳朶をエタノール綿で拭いて乾かし、穿刺針で約 3mm の深さに刺す。
- ② 初めの 3~4 滴はぬぐい去って用いない。
- ③ 先が球状になった細いガラス棒の先に 14%硫酸マグネシウム液を採り、きれいに拭いて乾かした穿刺創につける。液が滴状になるようにする。14%硫酸マグネシウム液と血液との量の比は 3 : 1 ぐらいが適当である。
- ④ 耳朶を軽くつまみ傷口から血液が硫酸マグネシウム液の中へわき出すようにする。
- ⑤ 引きガラスの角で両者をすばやく混合する。
- ⑥ 混合液の一部を引きガラスで採り薄層塗抹標本をつくる。
- ⑦ 十分乾燥する。
- ⑧ Giemsa 染色の緩衝液は pH7.2 くらいで染色する。
- ⑨ 視野縮小器を使って 1 視野に赤血球が 20~30 個みられる程度にする。塗抹の引き終わりから引き始めに向かい視野をサイドエッジから他のサイドエッジへ動かしながら赤血球を 1,000 個数え、そのあいだに出現する血小板を数える。血小板が多数集合したところがあれば本態性血小板血症などの場合を除き標本作製不良であり使用に耐えない。
- ⑩ 例えば、赤血球数 411 万/ μ L のとき、赤血球 1,000 個につき血小板が 50 個あったとすれば、計算は次のようになる。

$$4,110,000 \times 50 / 1,000 = 205,500$$

ただし、1,000 以下の数字は無意味であるから 20.5 万/ μ L とする。

II. 血球計数の基礎

1. 測定の原理²³⁾

1) 血球計数と容積

(1) 電気抵抗法（インピーダンス法）

希釈液（伝導性液体）に満たされたアパチャー（細孔）の前後に電極を配して一定電流を流すと、希釈液と血球との間に電気的抵抗の変化が生じる（図 11）。一つの血球がアパチャーを通過した時の抵抗値が血球の容積に比例し、通過時のパルス電圧の発生頻度が血球数に相当する。

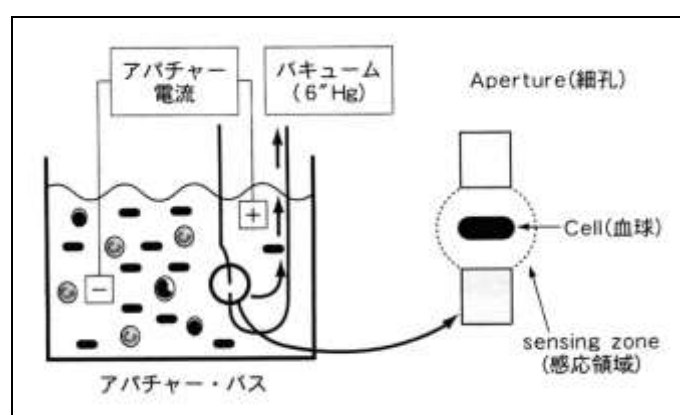


図 11 コールター方式「文献 7 から引用」

測定機器には血球の同時通過や乱流による舞い戻りを防止するため、スイープフロー方式（図 12）やシースフロー方式（図 13）などを搭載している機種がある²³⁾。

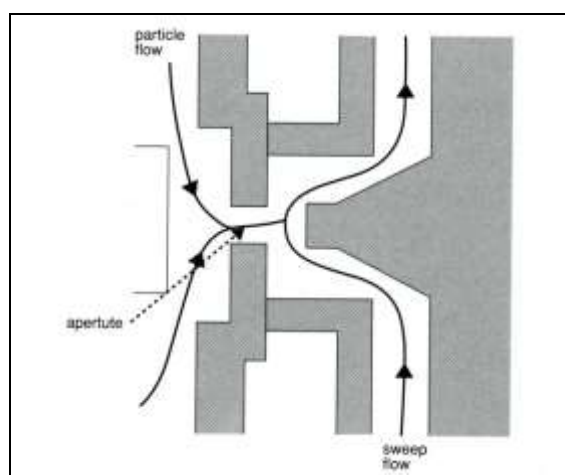


図 12 スイープフロー方式「文献 23 から引用」

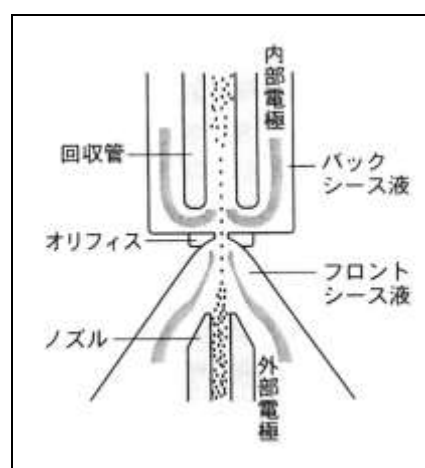


図 13 シースフロー方式「文献 23 から引用」

(2) 散乱光（フローサイト）法

全血を希釈してフローセル中を 1 列に通過するように流し、この流れにレーザー光を照射し血球が

らの散乱光情報を捕捉して測定を行う方法。個々の血球の高角度散乱光と低角度散乱光により血球を弁別し、血球数と容積を計測する。

2) ヘモグロビン測定

Hb の測定は、国際血液標準化委員会が国際基準法としてシアンメトヘモグロビン (HiCN) 法を勧告し、多くの機器で採用されていた。しかし現在では、廃液による環境汚染が問題であるため、環境に配慮したノンシアン法を用いた機器が増えている。ここでは国際基準法である HiCN 法とノンシアン系界面活性剤法のラウリル硫酸ナトリウムヘモグロビン法 (SLS-Hb 法) を記す。

(1) HiCN 法 (国際基準法)

赤血球を界面活性剤で溶血し、ヘモグロビンをフェリシアン化カリウムでメトヘモグロビンとし、さらにシアン化カリウムでシアンメトヘモグロビンに変えて 540nm で比色定量する。ただし、シアンを含む廃液が環境汚染の原因となるため廃液処理が必要である。

(2) SLS-Hb 法

ラウリル硫酸ナトリウム (SLS) の界面活性作用により、赤血球は溶血し、ヘモグロビンが遊離する。遊離したヘモグロビン中の Fe^{2+} が酸化され Fe^{3+} となり、 Fe^{3+} と SLS の親水基と結合して SLS-Hb が生成する。SLS-Hb を 540nm で比色定量する。この方法ではシアンを使用しないため廃液処理が不要である。

2. 血液検査基準分析法 (参照法)

近年、世界的に検査室の品質と能力に関する要求が高まってきている。しかし、長さ、重さおよび容量などの物理量国際標準機が存在しない臨床検査分野では CBC や白血球分類のように SI 単位でトレースできない項目が多い。これに対して血液検査値を世界共通にしようという活動があり WHO、血液学標準化国際委員会 International Council (Committee) for Standardization in Haematology (ICSH)、臨床検査標準協会 Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) および国際検査血液学会 The International Society for Laboratory Hematology (ISLH) などから多くの提案がなされてきた²⁴⁾。表 1 に ICSH が定める用手的方法の CBC の基準分析法 (参照法)²⁵⁾ を示す。

表 1 基準分析法（参照法）²⁵⁾

項目	方法	基準分析法（参照法）
WBC	Glass chamber 法 シングルチャンネル電気抵抗法	ICSH. Reference method for the enumeration of erythrocytes and leukocytes. Clin Lab Haem. 16. 131-138. 1994.
RBC	Glass chamber 法 シングルチャンネル電気抵抗法	ICSH. Reference method for the enumeration of erythrocytes and leukocytes Clin Lab Haem. 16. 131-138. 1994.
Hb	HiCN 法 (シアノメトヘモグロビン法)	1. ICSH. Recommendation for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH Standard 1995). J Clin Pathol. 49. 271-274. 1996. 2. NCCLS. Reference and selected procedures for the quantitative determination of hemoglobin in blood. H15-A3. 2000. 3. 日本臨床病理学会標準委員会血液小委員会. 血液ヘモグロビン濃度基準分析法. 臨床病理. 48.261-267.2000.
Ht	Microhematocrit 法 (遠心ヘマトクリット法)	1. ICSH. Recommendation for reference method for the packed cell volume (ICSH Standard 2001). Lab Hematol. 7.148-170.2001. 2. NCCLS. Procedure for determining packed cell volume by the microhematocrit method. approved standard-3 rd edition. H7-A3. 2000.
PLT	Phase contrast RBC/Platelet Ratio 法 (RBC/Plt 比法)	1. Recommended methods for the visual determination of white cell and platelet counts. WHO LAB. 1988:88:1 2. ICSH. Platelet counting by the RBC/Platelet Ratio method. a reference method. Am J Clin Pathol. 115. 460-464. 2001.

3. 採血と抗凝固剤

1) 採血

血液は多くの生体情報を含む一般的かつ重要な試料である。しかし不適切な採取法によって得られた血液を用いた検査結果は、臨床判断を狂わし混乱を招きかねない。したがって適切な採血法を習得し、検査値に影響を与える因子を熟知することは正確な臨床検査値を得るための基本といえる。

血液検体は採血部位によって、静脈血、毛細管血、動脈血に大別することができる。このうち CBC に用いられる検体は大部分が静脈血である。毛細管血は乳幼児および成人で静脈採血が困難な場合に対象となる。採血手技の詳細は近年発行されている各種ガイドラインを参照されたい。採血の得手不得手による組織液の混入や、抗凝固剤との攪拌不良は検査結果に大きな影響をおよぼす^{26~28)}。

2) 抗凝固剤

EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) は白血球形態の変化が少なく、血小板の凝集も少ないため CBC や血液像検査の抗凝固剤として使用される。血液検査分野での国際的な標準化関連機関である ICSH や CLSI では、CBC 用検体は EDTA-2K を抗凝固剤として採血することを勧告している^{29~31)}。

4. 検体の保存管理³²⁾

CBC および血液像用検体は凍結保存ができない。検体はできる限り速やかに測定することが理想である。ただちに CBC 測定ができない場合は、室温で保存し 5 時間以内に測定することが望ましい。これは時間経過とともに赤血球が大球化する傾向がみられるためである。CBC の血球数と Hb 測定だけであれば室温 24 時間後でも有意差はない。測定が翌日になる場合は、冷蔵庫 (4℃) 保存がよい。ただし、検体を冷蔵庫から出して測定する場合には必ず室温に戻す。

血液像用標本は、ただちに標本作製するのが基本だが、できない場合には室温で遅くとも 4 時間以内に作製することが望まれる。これは時間経過とともに白血球形態の変化が生じ、白血球の病的変化とアーチファクトとの鑑別が困難となるためである。

5. 生理的変動

1) 白血球

性差はないが年齢差があり、新生児では 20,000 個/ μ L 前後と増加しており、1 歳未満の小児でも成人よりは高値を示す。また、老人では減少傾向にある。白血球分類は、乳児ではリンパ球が最も多く 70%にも及ぶ。6 歳くらいで成人とほぼ同様となるが、10 歳代でもリンパ球が好中球を上回っていることがある³³⁾。

静脈血は毛細管血よりも 15~20%程度低めになる。立位の方が臥位よりもやや高めとなる。日内変動は午前中低く午後から夕方にかけて高くなる³⁴⁾。季節変動は冬に高く、夏に低い傾向がある³⁵⁾。

月経時、妊娠後期、運動、肉体労働、精神的ストレスおよび疼痛などによる精神的興奮、陣痛、寒冷暴露および過度の喫煙で増加する³⁶⁾。食事の影響は増加する場合 (高タンパク食) と減少する場合もあり一定ではない。アルコール中毒では減少する³⁷⁾。栄養不良やストレスによりリンパ球は減少する³⁸⁾。

2) 赤血球、ヘモグロビンおよびヘマトクリット

新生児は高めで、生後 4 日間は血液濃縮により上昇する。その後溶血や造血機能の低下により減少し、2 ヶ月から半年で最低となり、緩やかに上昇して、学童期以後徐々に成人値へ近づく。成人男性は成人女性より高く、男性では加齢とともに低くなり、女性では変化が少ない。

臥位では立位の場合より 10%程度低めとなる。静脈血は毛細管血より 15~20%低めとなる³⁹⁾。日内変動は午前に若干高く、午後減少する⁴⁰⁾。

低下は、血漿量が増加した場合 (妊娠や栄養不良など)、過度の飲酒によるアルコール性肝障害および過激な長時間運動による溶血などで起きる。

急性出血の直後は循環血球量の著しい低下にもかかわらず Ht は正常値を示し、血漿補充のため血管外液が 2~3 日間血管内に流入した後に Ht の低下が明らかとなる⁴¹⁾。

増加する場合には、血漿量が減少した場合 (脱水、運動や発熱による多量の発汗、嘔吐および下痢)、

組織の低酸素状態がある場合（高地居住や過度の喫煙）、ストレスによる場合（高血圧、肥満、高脂血症、喫煙歴、高尿酸血症およびアルコール多飲）がある⁴²⁾。

3) 血小板

一般的に、性周期においてPLTは特に変化しない。しかし、月経開始時に血小板減少を起こすという報告もみられる。運動や喫煙により増加し、過度の飲酒により減少するが加齢による変動は見られないようである⁴³⁾。

Ⅲ. 参考文献

- 1) 柴田昭ほか：血液学総論，エッセンシャル血液病学， 22-23，医歯薬出版，1983
- 2) 松野一彦：形態と機能，スタンダード検査血液学 第2版， 44-49，医歯薬出版，2008
- 3) 竹村譲：白血球系疾患，スタンダード検査血液学 第2版， 228-234，医歯薬出版，2008
- 4) 桑島実：血液検査実践マニュアル，血球計数検査，検査の目的と意義，検査と技術 2000；28：676-678
- 5) 柴田昭：血液学総論，エッセンシャル血液病学，134-137，医歯薬出版，1983
- 6) 伊藤正男ほか：医学大辞典 第2版，892，918，1794，2907，医学書院，2009
- 7) 西村敏治：自動血球測定法，スタンダード検査血液学 第2版，105-107，医歯薬出版，2008
- 8) 川田勉：用手法における血球計数，スタンダード検査血液学 第2版，99-101，医歯薬出版，2008
- 9) 宮地勇人：Hb 濃度とHt 値，スタンダード検査血液学，183，医歯薬出版，2003
- 10) 川田勉：赤血球指数，スタンダード検査血液学，84，医歯薬出版，2003
- 11) 久保田浩：血球計数検査—赤血球系，検査と技術 2000；28：690-693
- 12) 山本慶和：緊急検査実践マニュアル，検体検査編，日本臨床検査自動化学会誌 2007；174：33-38
- 13) 久保田浩：血球数—自動分析法，血球計算盤，検査と技術 2005；33：1233-1238
- 14) 松野一彦：自動血球計数装置による末梢血球数算定，医器学 1999；69：25-29
- 15) 堀隆彦：血清浸透圧が赤血球恒数に及ぼす影響，Medical Technology 2002；30：1246-1247
- 16) 川合陽子：血液像—見逃してはいけない異常パターン—第3回血小板，Medical Technology 1999；27：1435-1439
- 17) 松田保：血小板数の低下，止血・血栓の臨床，65-66，新興医学出版，2001
- 18) 血小板濃厚液の適正使用，輸血療法の実施に関する指針 および 血液製剤の使用指針（平成 17 年 9 月改訂版）75-87，日本赤十字社 血液事業本部，東京，2005

- 19) 上田尚紀：血球計算，ひとめでわかる検査当直チェックポイント，Medical Technology 1998；26：34-35
- 20) 西村敏治ほか：数の異常，検査と技術 2004；32：1116-1120
- 21) 浅井正樹：用手法における血球計数，スタンダード検査血液学，81-86，医歯薬出版，2003
- 22) 金井正光監修：血小板数算定，臨床検査法提要 改訂第33版，197，金原出版，2010
- 23) 巽典之：主な自動血液分析の計測基本原理，自動血液検査品質保証論 バックマンコールターStudy Book No.3，1-5，バックマンコールター社，2005
- 24) 巽典之：性能評価方法，計測技術ティーチング ー自動血球分析装置の基本原理ー，120-136，宇宙堂八木書店，2006
- 25) 巽典之：分析装置の作製とその正確性保証，自動血液検査品質保証論 バックマンコールターStudy Book No.3，13，バックマンコールター社，2005
- 26) 山内一由：採血法と血液検体保存，臨床検査法提要 改訂第33版，46-51，金原出版，2010
- 27) 東克己：採血法，スタンダード検査血液学，71-76，医歯薬出版，2003
- 28) S.Narayanan：臨床検査における採血用抗凝固剤の影響，総集 検体検査のサンプリングー検査前誤差防止のためにー，臨床病理 1996；103：73-78
- 29) International Council for Standardization in Haematology. Recommendations of the international council for standardization in haematology for ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing. Am J Clin Pathol.1993;100:371-372
- 30) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Tubes and additives for venous blood specimen collection; approved standard - fifth edition. Document H1-A5. Wayne, PA: NCCLS, 2003
- 31) Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use? Tech Talk® vol.7, No.1 January 2009 BD Global Technical Services News
- 32) 東克己：検体管理，スタンダード検査血液学 第2版，94，医歯薬出版，2008
- 33) 松野一彦：白血球数の基準範囲，スタンダード検査血液学 第2版，50，医歯薬出版，2008
- 34) 河合忠編：白血球数算定と基準値，異常値の出るメカニズム第5版，88，医学書院，2008

- 35) 河合忠編：白血球数 生理的変動，基準値と異常値の間-その判定と対策-，104，中外医学社，2006
- 36) 竹村讓：白血球増加症，スタンダード検査血液学 第2版，228，医歯薬出版，2008
- 37) 竹村讓：白血球減少症，スタンダード検査血液学 第2版，233，医歯薬出版，2008
- 38) 河合忠編：リンパ球減少症，異常値の出るメカニズム第5版，104，医学書院，2008
- 39) 服部幸夫ほか：赤血球数の基準範囲，スタンダード検査血液学 第2版，41，医歯薬出版，2008
- 40) 河合忠編：赤血球一般検査 生理的変動，基準値と異常値の間-その判定と対策-，86，中外医学社，2006
- 41) 宮地勇人：貧血，スタンダード検査血液学第2版，214，218，医歯薬出版，2008
- 42) 田窪孝行：赤血球増加症，スタンダード検査血液学第2版，225，226，医歯薬出版，2008
- 43) 山中學：血小板，186，188，191，229，285，286，医学書院，1991

編集後記

平成 15 年に愛知県臨床検査標準化協議会が設置され、我々はCBCの単位と基準値の統一化を検討した。この検討は多くの方々より理解され期待されていたが、日本臨床衛生検査技師会より基準値が発表されることを受けガイドラインの発行は見送りになった。基準値の発表は標準物質が存在しない血液検査の分野においては大きな成果であった。しかし単位と基準値が定まったとしても血液検査特有のピットホールがあり、正しい検査データを提供するためには気を付けなければならない誤差要因が存在する。それは生化学における再検確認とは異なり、同じ操作を 2 度繰り返すだけでは解決しない問題である。近年、人員削減のために複数の部門にわたって業務を行うことが増えている検査室においては必ずしも血液検査の知識を十分に持った臨床検査技師（技師）が配置されているとは限らない。どんなに小さな施設の検査室であっても技師がいる限り、技師が責任を持って検査データを臨床に提供できるように本書を活用していただき、本書が標準化に寄与することを期待する。

血液検査部門 牧 俊哉

ガイドライン作成委員会

作成委員長	牧 俊哉	(名古屋第一赤十字病院)
作成委員	朝日 慈津子	(労働者健康福祉機構中部労災病院)
作成委員	赤座 久美子	(名鉄病院)
作成委員	今井 正人	(愛知医科大学病院)
作成委員	梶浦 容子	(名古屋大学医学部附属病院)
作成委員	清水 宏伸	(愛知医科大学病院)
作成委員	鈴木 博子	(春日井市民病院)
作成委員	田中 里枝	(愛知県がんセンター愛知病院)
作成委員	永田 篤志	(厚生連豊田厚生病院)
作成委員	藤原 妙	(医療法人豊田会刈谷豊田総合病院)

問い合わせ先

愛知県臨床検査標準化協議会事務局

〒450 - 0002

名古屋市中村区名駅五丁目 16 番 17 号

花車ビル南館 1 階

(社) 愛知県臨床衛生検査技師会事務所

Tel 052 - 581 - 1013

Fax 052 - 586 - 5680

愛知県臨床検査標準化協議会
愛知県臨床検査標準化ガイドライン
「CBC の誤差要因と対策」
第 1 版

発行 平成 25 年 3 月
発行所 愛知県臨床検査標準化協議会
発行者 伊藤宣夫
編集者 岸孝彦・鈴木博子・牧俊哉