

日本臨床検査専門学院第48期生化学コース
2023/09/13、日本衛生検査所協会事務室

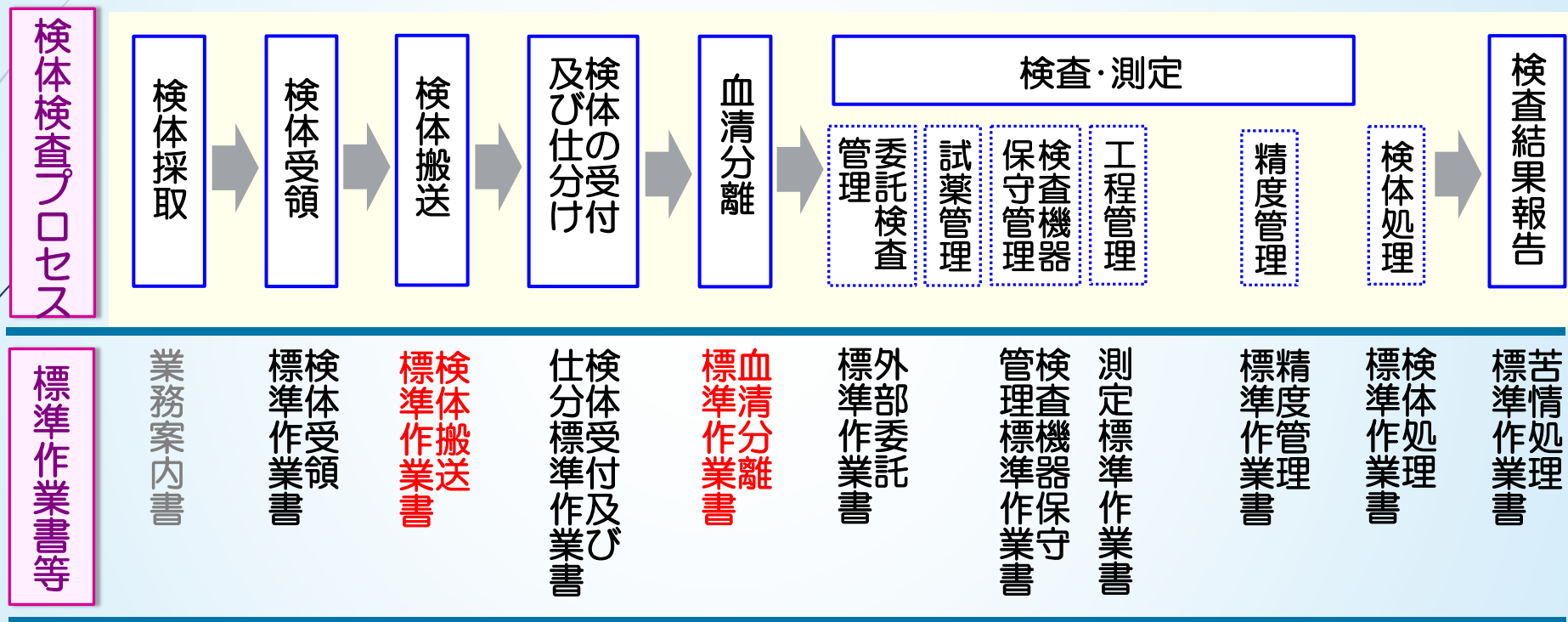
プレアナリティックフェーズ(サンプリング等) の検査値への影響・重要性

昭和大学
高木 康

今日のアジェンダ

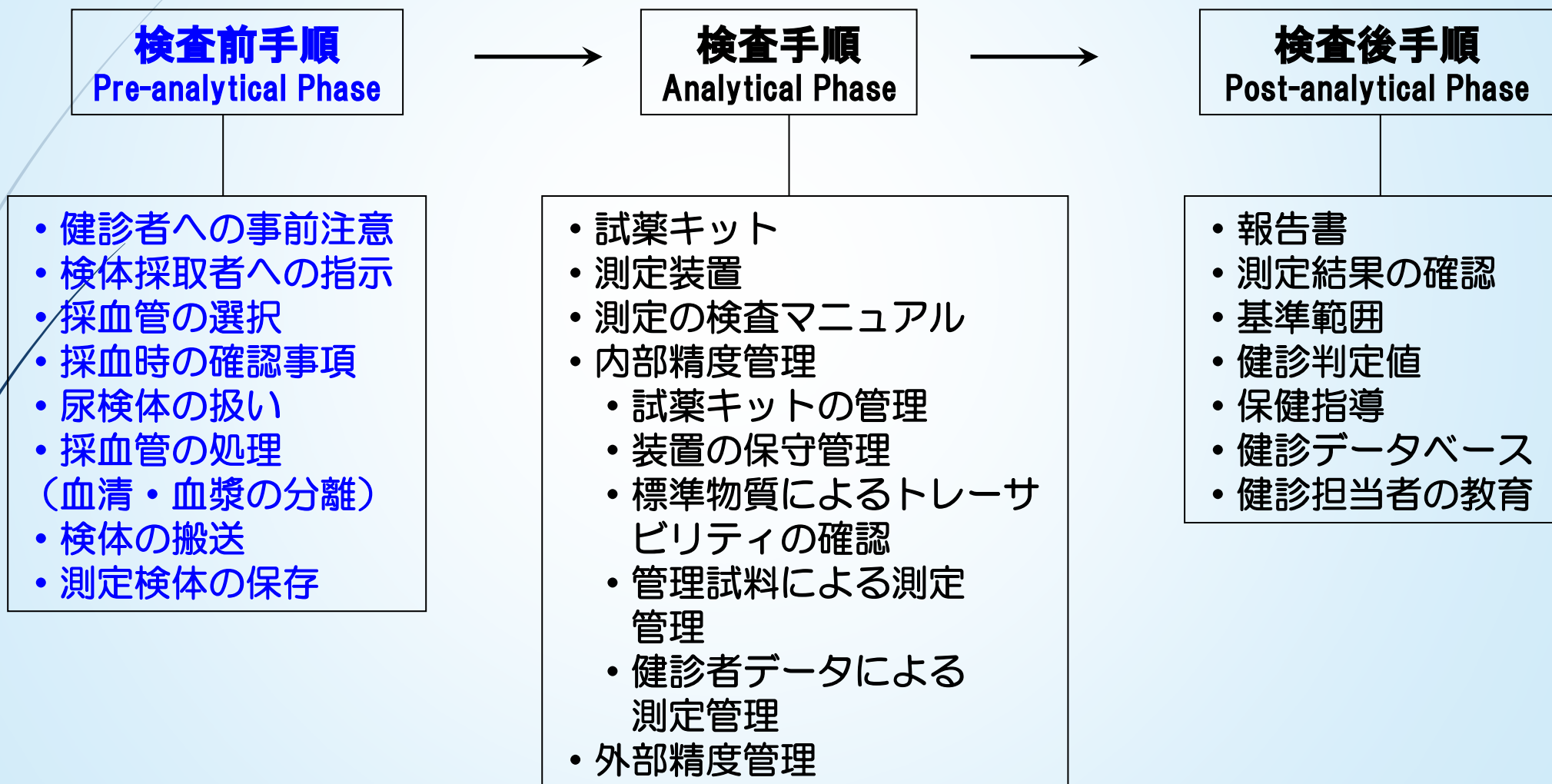
1. 検査の手順と内容
2. 検査値の変動因子
3. 検査値の解釈上の注意点
 - ① 生理的変動
 - ② 検体採取時の変動
 - ③ 検体保存時の変動
4. まとめ

検体検査のプロセスと標準作業書



- 検査値は検査時の変動ばかりでなく、検査前でも大きく変動する
- 検査値の解釈上では患者の生理的変動、サンプリングでの変動を理解する必要がある

検査手順と内容



検査値の変動因子

- 患者に起因する変動
 - 病態による変動
 - 生理的変動
 - サンプルングによる変動

- 検査技術に起因する変動
 - 分析時の変動（分析誤差）
 - 検体採取時の変動

検査値の変動因子

■ 患者に起因する変動

- 病態による変動
 - 病態の変化による変動
 - 医療処置による変動（手術、輸血、輸液など）
 - 治療による変動
- 生理的変動
 - 個体間変動（遺伝、年齢、性別など）
 - 個体内変動（食事、運動、体位など）

検査値の変動因子

■ 検査技術に起因する変動

- サンプルングによる変動
 - 分析前段階による処理の誤り
(採取前処理、採血条件、保存条件など)
- 分析技術上の変動
 - 固有誤差 ⇒ 施設間差
(測定機器、測定方法など)
 - 技術誤差 ⇒ 施設内変動
 - 系統誤差：標準物質、試薬の劣化、分注精度、反応温度
 - ランダム誤差：人為ミス、メンテナンス不良、汚染

検査前誤差 (pre-analytical error)

- 被検者の検査前管理
 - ☞ 「生理的変動」
- 検体採取、保存、搬送、前処理などの検査実施・測定前の段階で生じる誤差
 - ☞ 「サンプリング」

臨床検査値に影響を与える影響因子

-分析因子-

1. 分析誤差

- ① 分析試薬
- ② 装置・機器
- ③ 標準物質
- ④ 検体性状（溶血、乳瀰、黄疸など）
- ⑤ 技術未熟・過失

2. 薬物の干渉

- ① 投与薬物（代謝物）の分析干渉
- ② 薬物相互干渉

臨床検査値に影響を与える影響因子

-分析後因子-

1. 測定値評価

- ① 結果確認
- ② 結果転記
- ③ 検体取り違いの確認
- ④ 結果の修正

2. 報告書作成

- ① 基準値
- ② 病態識別値
- ③ コメント

3. 記録保存

- ① データベース

分析前變動因子 (pre-analytical factor)

臨床検査値に影響を与える影響因子

-分析前因子(1)-

1. 身体的要因

- 1) 疾病・病態による変動
- 2) 生理的変動
 - ① 日内変動、季節変動
 - ② 年代による変動
 - ③ 性別
 - ④ 妊娠
- 3) 生活環境の影響
 - ① 食事内容
 - ② 嗜好（アルコール、タバコなど）
 - ③ 筋肉運動、
 - ④ ストレス、睡眠
 - ⑤ 居住環境（高地、寒冷地など）
- 4) 投与薬物の影響、副作用

臨床検査値に影響を与える影響因子

-分析前因子(2)-

2. 検体採取（サンプリング）・ハンドリングの要因

1) サンプリングの（誤りによる）影響

- ① 不適切な抗凝固剤
- ② 採取後の経時変化
- ③ 採取時の溶血
- ④ 採血部位・体位

2) ハンドリングの（誤りによる）影響

- ① 検体の保存
- ② 検体の搬送事務手続き

被検者の変動要因

1. 性別
2. 年齢
3. 日内変動 • 季節変動
4. 筋肉運動
5. 食事
6. 遺伝的要因
7. 投与薬剤
8. 採血体位 • 採血部位
9. 月経周期 • 妊娠
10. 職業
11. 生活環境

生理的変動

➤ 個体間変動

①性別、②年齢、③遺伝、④人種、⑤環境、⑥職種、⑦生活習慣（運動、喫煙、飲酒、肥満、食事嗜好など）

➤ 個体内変動

- 長期：①妊娠、②月経周期、③季節差
- 短期：①食事、②運動、③日内リズム、④体位、⑤嗜好（喫煙、飲食など）、⑥ストレス

性別による変動

-有意な性差が認められる項目-

➤ 男性＞女性

- ① 赤血球数、ヘモグロビン量
- ② 血清鉄（フェリチン）
- ③ クレアチニン、クレアチンキナーゼ（CK）
- ④ 尿酸、BUN

➤ 男性＜女性

- ① HDL-コレステロール、ホルモン
- ② 赤血球沈降速度

性別による変動

-有意な性差が認められる項目-

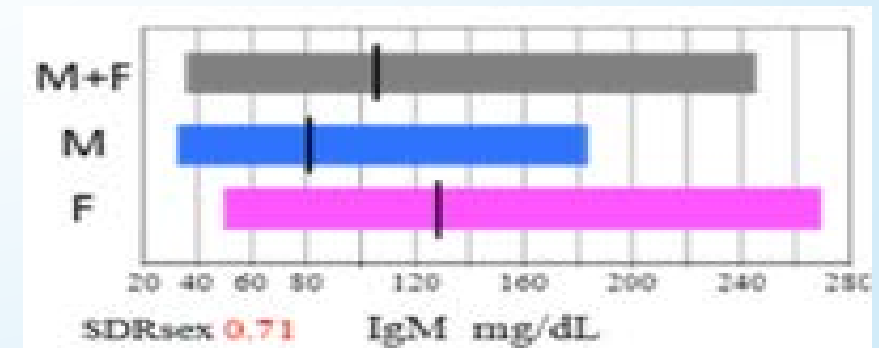
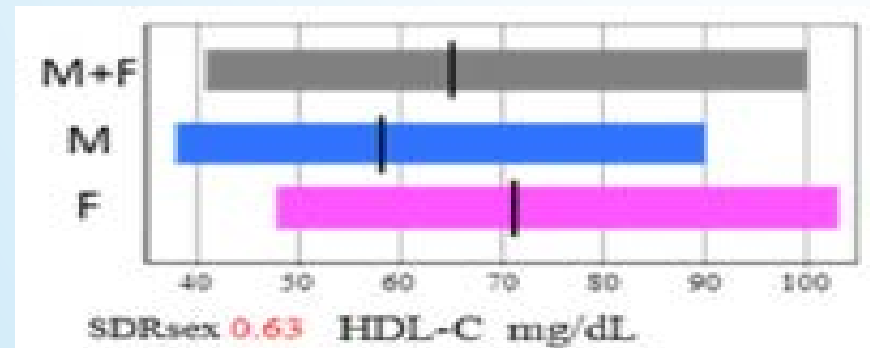
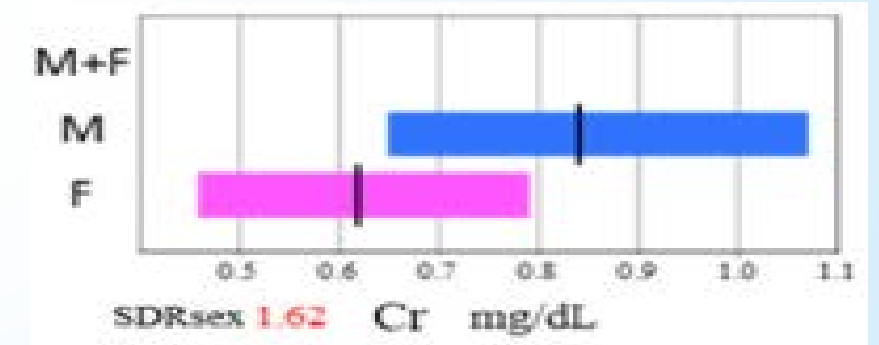
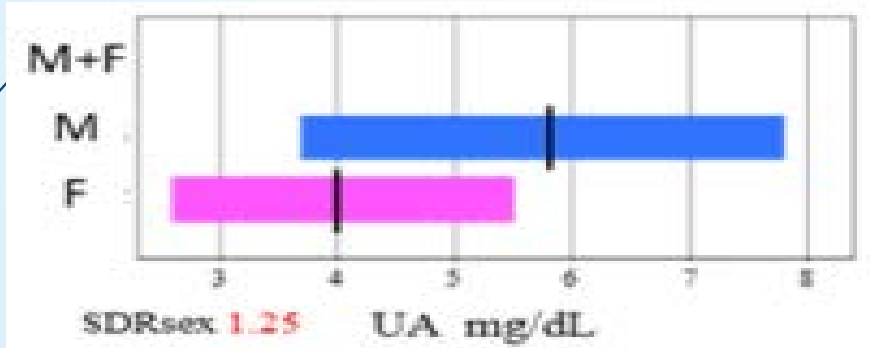
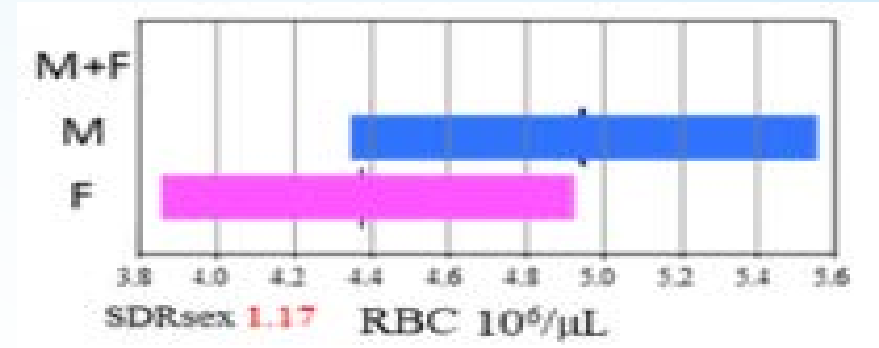
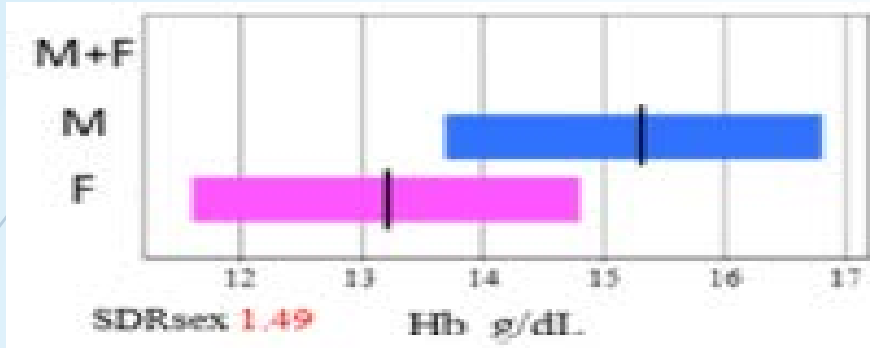
➤ 男性＞女性

①中性脂肪、②クレアチンキナーゼ（CK）、③γ-GT、④ALT、⑤クレアチニン、⑥ミオグロビン、⑦尿酸、⑧BUN、⑨アンモニア、⑩AST、⑪血色素量、⑫酸性ホスファターゼ、⑬赤血球数、⑭アミノ酸、⑮アルカリホスファターゼ、⑯コリンエステラーゼ、⑰血清鉄、⑱血糖、⑲LDL-コレステロール、⑳アルブミン

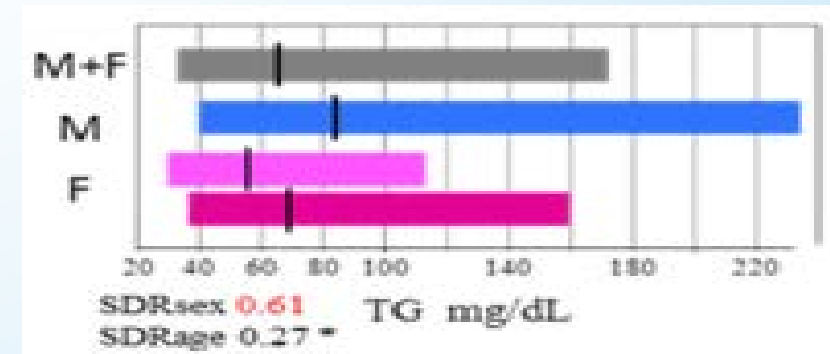
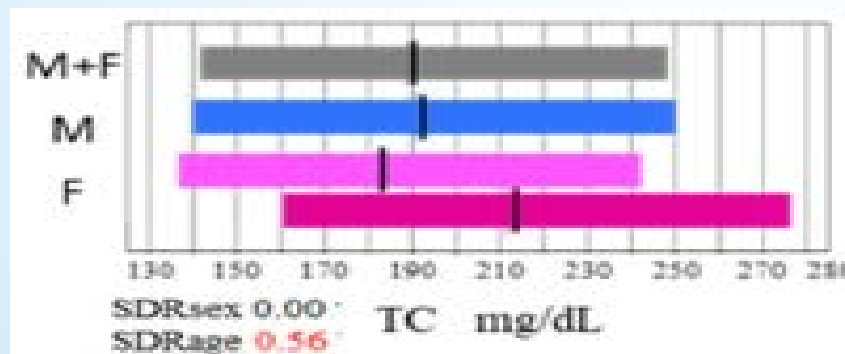
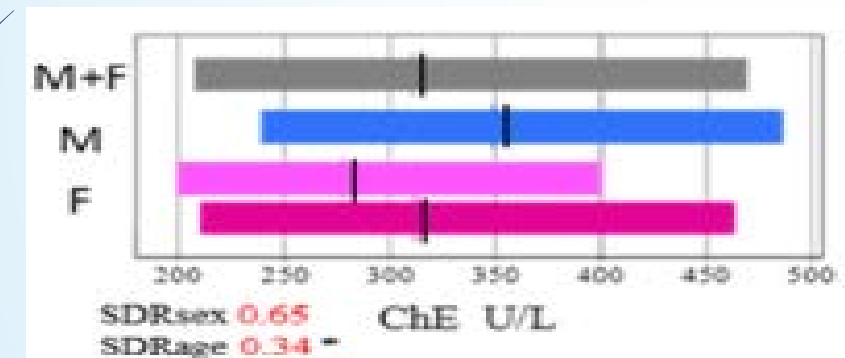
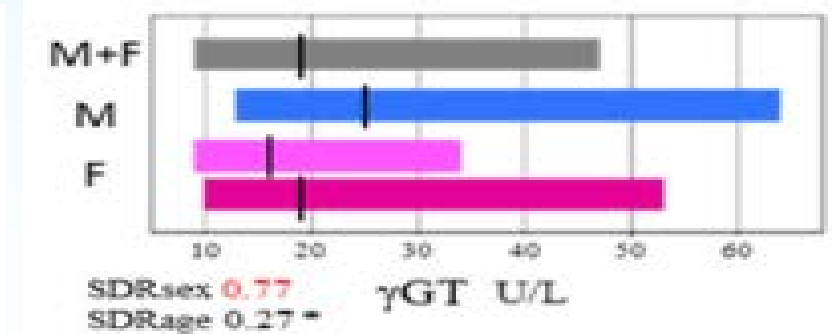
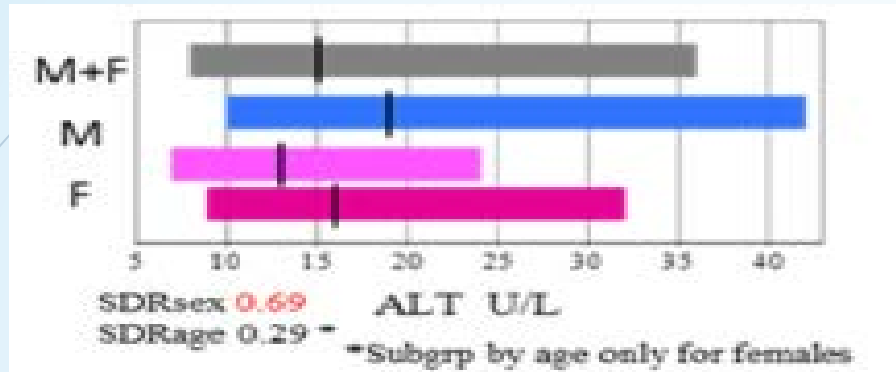
➤ 男性＜女性

①HDL-コレステロール、②血清銅、③アポA-I

性別による変動



性別・年齢による変動



年齢による変動

-小児から成人への変動-

1. 出生時最も低値で、月齢・年齢とともに増加して成人値となる項目
 - ① 総蛋白、アルブミン
 - ② IgA、IgM
 - ③ アミラーゼ
 - ④ 総コレステロール
 - ⑤ 尿素窒素
 - ⑥ 総カルシウム
2. 出生時あるいは新生児期に最も高値で、月齢・年齢とともに減少して成人値となる項目
 - ① クレアチンキナーゼ(CK)、LD、AST
 - ② ALT、 γ -GT
 - ③ ビリルビン

年齢による変動

-小児から成人への変動-

3. 新生児期や思春期に著しい変動を示す項目

- ① IgG：出生時は成人値で、生後数ヶ月で最低値となった後、漸増して成人値となる。
- ② アルカリホスファターゼ：骨芽細胞のALPにより新生児、思春期で高値となる。
- ③ 赤血球数：新生児に高値で、乳児期に低下し、漸増して成人値となる。

年齢による変動

-成人から老人への加齢による変動-

1. 加齢とともに減少する項目
総蛋白、総カルシウム、無機リン、ビリルビン、
赤血球数（ヘモグロビン量）
2. 加齢とともに増加する項目
尿素窒素、クレアチニン、 γ -グロブリン分画、LD
3. 加齢とともに増加するが高齢で一定となる項目
総コレステロール、 β リポ蛋白
4. 加齢とともに増加して、高齢で漸減する項目
尿酸、アルカリホスファターゼ、血糖、ALT

日内変動・季節変動

- ヒトの生活リズムと密接な関係がある
 - 昼間に活動して、夜間に睡眠をとる
 - 季節により活動性も異なる
- 日内変動をきたす検査項目
 - ① 血中ホルモン：コルチゾールは深夜に低値で、早朝に高値。乳幼児では日内変動が認めない⇒睡眠
 - ② 血清鉄：朝高値で、夕方低値。差が $20\sim 50\mu\text{g/dL}$ と大きい。⇒鉄欠乏性貧血と誤診することがある。
 - ③ 尿酸、BUN：朝>夕
 - ④ 白血球数：朝<夕

食事による影響

-食習慣による影響-

- 脂質を多く含む食事
 - 総コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪
- 高蛋白食
 - BUN、アルブミン、アミノ酸
- プリン体（核・核酸）を多く含む食事
 - 尿酸

食事による影響

- 1回の摂食による影響 -

- 糖質関連項目
グルコース（血糖）、尿糖、インスリン・Cペプチド（↑）
- 脂質項目
中性脂肪（↑）、遊離脂肪酸（↓）
- 酵素
アルカリホスファターゼ（B、O型の分泌型）（↑）
- 蛋白
アンモニア、アミノ酸、栄養指標蛋白 [レチノール結合蛋白、プレアルブミン（トランスサイレチン）]（↑）
- その他
胆汁酸（↑）、無機リン、カリウム（↓）

筋肉運動による変動

➤ 筋肉運動による生体の反応

- ホルモン：エピネフリン、コルチゾール、ACTHの上昇とインスリンの低下
- 反応物質：グルコース、乳酸、遊離脂肪酸、白血球数の 上昇と中性脂肪の低下
- 運動習慣：HDL-コレステロールの上昇

➤ 筋肉からの逸脱・遊出

- 筋肉中に存在する物質が低酸素状態でのエネルギー低下に伴い、筋肉中から血中へ逸脱・遊出する
- CK、LD、AST、ミオグロビン
- 筋肉トレーニングしているか否かにより変動幅が異なる
⇒トレーニングしているヒトは変動幅が小さい

妊娠による変動

- 妊娠による血漿量の増加：
2,500mL前後⇒4,000mL前後
- 妊娠後期：
尿量が25%、糸球体濾過量が50%増加
- 変動項目とその機序
 - 合成誘導：ALP、血液凝固因子
 - 運搬蛋白の増加：サイロキシン、脂質、銅、セルロプラスミン
 - 血液希釈：総蛋白、アルブミン
 - 供給増加：鉄、フェリチン
 - 急性相反応物質の増加：血沈

嗜好による変動

➤ アルコール

- 1回の飲酒：中性脂肪、 γ -GT
- 長期の飲酒（飲酒習慣）： γ -GT、中性脂肪、MCV

➤ タバコ

- CEA（↑）
- 白血球数、ヘモグロビン、MCV（↑）
- 総コレステロール、HDL-コレステロール（↓）、中性脂肪（↑）
- CRP、IL-6（↑）
- 血小板数、フィブリノゲン（↑）

主な生理的要因による検査値の変動

項目	立位	運動後	食 後	飲酒習慣	日内変動
血糖	?	↑ ↑	↑ ↑	?	+
TCHO	↑	↑	—	↑ ?	—
TG	↑	↑ 後 ↓	↑ ↑	↑ ↑	2+
BUN	—	— ↑ ?	↑	—	+ — ?
CRN	?	↑	—	—	+ — ?
UA	—	↑	↑	↑ ?	+ — ?
TP	↑ ↑	↑	↓	—	+
TBil	↑ —	—	↓ ?	—	+

主な生理的要因による検査値の変動

項目	立位	運動後	食 後	飲 酒	日内変動
AST	—	↑ ↑	—	↑	—
ALT	—	↑ ↑	—	↑	—
LD	↑	↑ ↑	↓ — ?	—	—
ALP	↑	—	— ↑ ?	↑ ?	—
γ-GT	—	—	↓ ?	↑ ↑ ↑	—
CHE	↑	—	↑ ?	↑	↑
CK	—	↑ ↑	—	—	—
AMY	—	—	—	—	— + ?

検体採取と検体保存

検体採取

➤ 採取条件

- 採血：①採血方法、②脈血帯と前腕運動、③採血部位、④採血時の体位
- 採血器具：①採血管、②採血量、③採血の順番、④採血のタイミング（個体内生理的変動、処置）、⑤抗凝固剤の種類（全血、血漿、血清の違い）、⑥分離剤
- 体液：①種類、②髄液、③その他の体液

➤ 検体の取扱

- 採血後操作：①採血後の攪拌、②血清分離までの時間、③遠心分離条件（温度、回転数、ブレーキ等）
- 採血：①溶血、②検体容器の形状、③無栓放置、④保存条件（温度、時間：全血放置、血清長期保存等）

検体の種類とサンプル時の問題点

➤ 血清

- 一般的な生化学・免疫検査で使用されている
- 凝固促進剤（シリカ、トロンビンなど）がコーティングされている採血管がある
- 凝固促進剤の検査項目への影響
⇒真空採血管で直後に凝固検査用採血管採血で凝固検査に影響がある（短くなる）

検体の種類とサンプル時の問題点

➤ 血漿

① ヘパリン血漿

- 緊急検査用に使用
- 血清≒血漿：ほとんどの項目
- 血漿>血清：総蛋白、LD
- 血漿<血清：カリウム
- フィブリノゲンのために同一位置に出現する可能性のあるM蛋白の検出を妨害する

② EDTA-2Na/EDTA-2K血漿

- ホルモンやペプチド等の分析に利用
- ⇒採血後に冷却遠心や血漿の即時凍結などの操作が必要

検体の種類とサンプル時の問題点

➤ 血漿

③ クエン酸血漿

- 凝固系検査に使用
- 高濃度のクエン酸はカルシウムと結合して、PTやAPTTの反応時間延長を来す
- 血漿量の多い貧血患者では小さく、多血症患者では大きい

④ グルコース測定用血漿

- NaF採血管ではNaFの溶解に時間がかかり2～3時間は解糖が徐々に進み、10mg/dL程度は低値となる
- EDTA塩は解糖阻止効果があるため、NAF-EDTA採血して迅速に遠心して得た血漿を用いて血糖を測定する

検体の種類とサンプル時の問題点

▶ 全血

- 赤血球を遠心すると古い赤血球は比重が高いために下層になる
- 古い赤血球ほど溶血しやすい
⇒HbA1cは下層と上層で異なり、溶血で偽低値となる

▶ 尿

- 生化学分析で、塩類の結晶の析出、アミラーゼは尿酸塩と結合するために偽低値となる。
⇒加温や希釈で再溶解させて分析する
- 細菌尿では尿素が分解されるため、尿素窒素は偽低値となる。畜尿検体検査では注意する必要がある

採血時の注意点

- 採血条件の不備（採血時間、採血前の安静）
 - 生化学検査は採血時間や筋肉運動の影響を受ける
 - 採血時の体位では、活動後座位採血ではベッド上安静時採血と比較して、総蛋白、アルブミン、コレステロール、IgG、白血球数、ヘモグロビン量などが高値となる
- 過度の駆血や採血前のクレンチング
 - 採血前に患者に強く握らせる、あるいはクレンチングではカリウムや乳酸が高値となる
- 穿刺時の刺しそこない
 - 複数回の血管に探りでは組織液の混入によりAPTTが延長することから、最初の試験管は不適とされた。その後、PTとAPTTでは影響がないことが判明した

採血時の注意点

- 採血管の順番
 - 真空採血管
 - 血算、凝固、生化学、血糖の順が一般的である
 - 生化学を先にするとカリウムの偽高値となる
 - シリンジ採血
 - 採血終了後はシリンジ内での凝固防止のために、凝固、血算から分注し、早めに転倒混和する
- 採血後検体の過度の振盪
 - 血球成分の崩壊に起因する異常値となる
 - 溶血ではカリウム、LDなどが偽高値となる

採血部位による影響

- 動脈血、毛細管血、静脈血で異なる
 - 血糖：動脈血 > 毛細管血 > 静脈血
 - ガス分析
 - 赤血球数、白血球数：毛細管血 > 静脈血血管内での鬱滞傾向のために15%程度

採血体位による影響

- 臥位か立位で循環血漿量が変動する。
 - 立位は臥位と比較して10%程度減少する
 - 高分子の血中物質は濃縮される
 - 立位・座位では重力のため、下肢の毛細血管圧が仰臥位に比較して上昇するため、水分が血管内から間質に移動して濃縮される。
- 変動する物質
 - 総蛋白、アルブミン、カルシウム、総コレステロール
 - 赤血球数、血色素量
- レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系
 - 立位 > 臥位
 - 血漿レニン活性：2.5～3.5倍、アルドステロン：1.5倍

検体保存時の注意点

- 遠心による血清・血漿分離
 - 検体採取後あるいは検体凝固後速やかに遠心操作により血清・血漿を分離する
 - 2時間程度は大きな変動はない
- 血清と血漿の保存
 - 冷蔵で1週間程度は安定な項目が多い
 - LDは冷蔵や-20℃より室温の方が安定である
 - CH50やPro-GRPは-80℃保存が必要
 - 採血管のまま冷蔵保存すると分離剤の上に残っている赤血球が溶血してAST、LD、カリウムが偽高値となる。検体量が少ないと影響が大きい

検体保存と検査値

-室温-

➤ 上昇

- アンモニア：30分で10~20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (蛋白質の分解)
- 遊離脂肪酸：3時間で10%、12時間で30% (リパーゼによる分解)
- LD:3時間で5%、12時間で10% (赤血球からの逸脱・漏出)

➤ 低下

- 血糖：3時間で10~20mg/dl、12時間で30~40% (赤血球の消費)
- 遊離コレステロール：12時間で10% (LCAT作用)
- CK、酸性ホスファターゼ：(不安定酵素)
- イオン化カルシウム：(酸性に傾くため)

検体保存と検査値

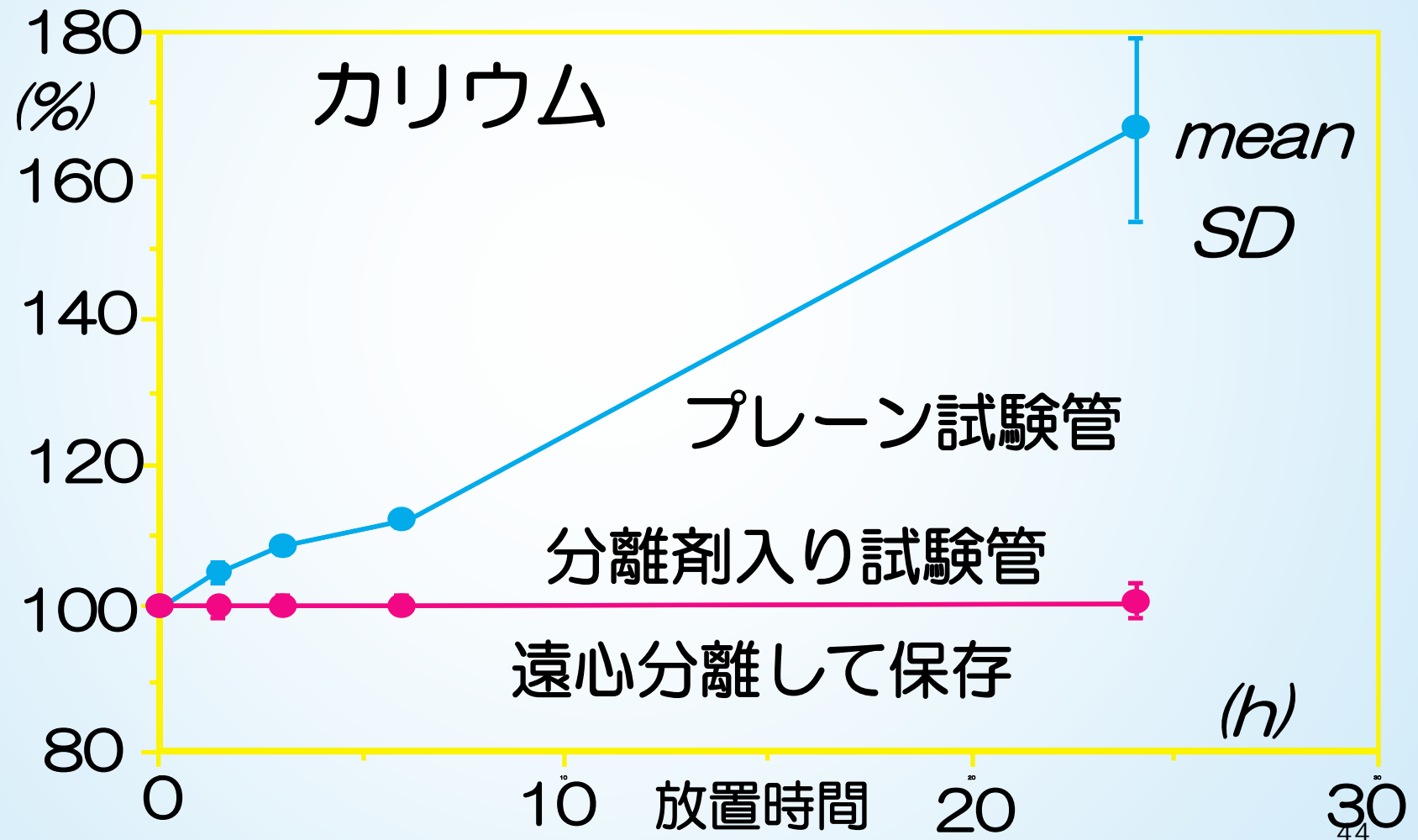
-冷蔵-

➤ 上昇

- カリウム：3時間で0.5～1.0mEq/L (Na-Kポンプの低下)

#全血で放置した場合

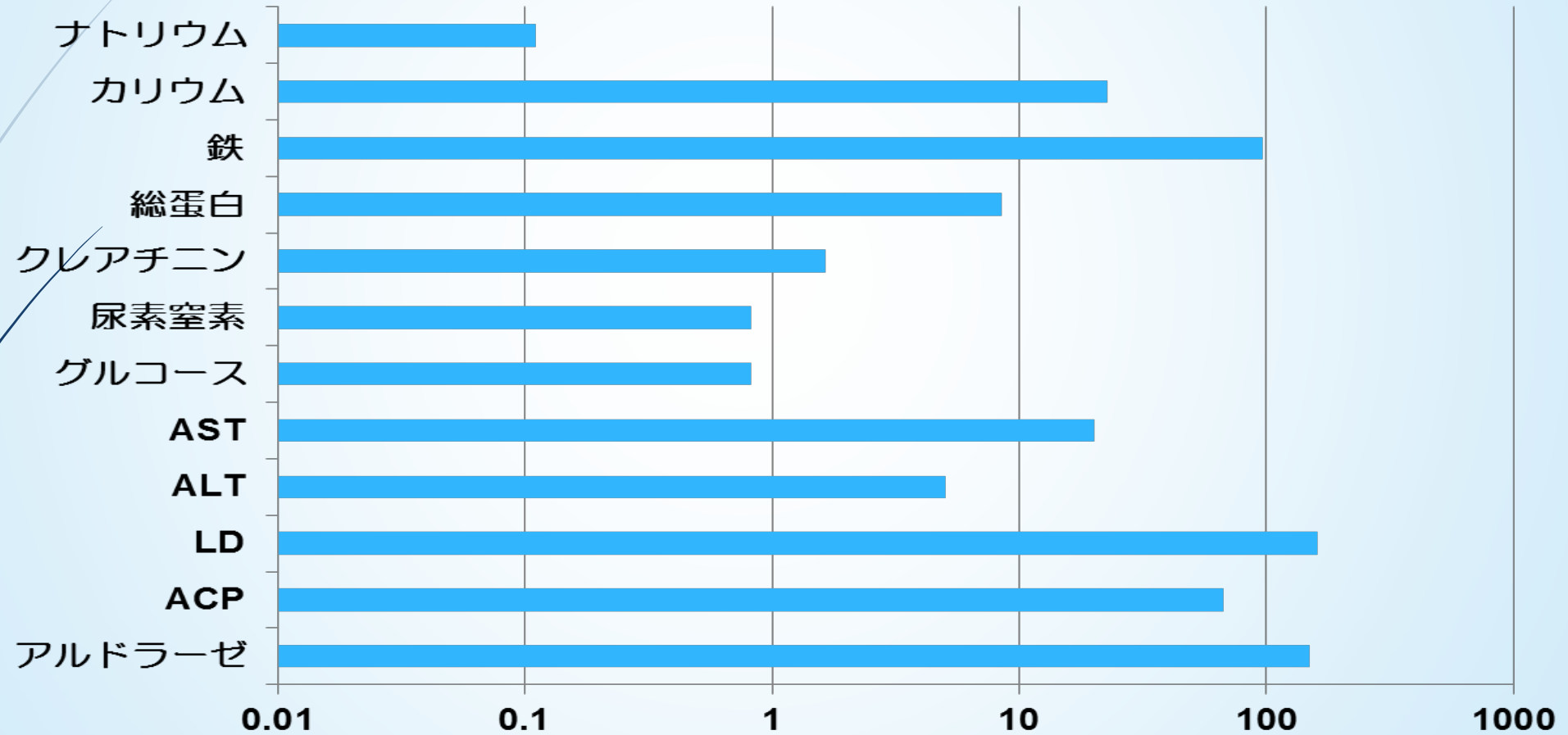
冷蔵保存の影響



溶血の影響

- 赤血球濃度が血清の濃度と比較して高値な項目は溶血の影響を受け易い
- 代表的な検査項目
 - LD (200倍)
 - AST (60~80倍)
 - カリウム (20~25倍)
- 影響度合
 - LD:
目に見える溶血と判断されるHb濃度は? (30~50mg/dL)
30~150 U/L高値となる

赤血球と血漿の成分濃度比



検体保存と検査値

-尿検査-

➤ 室温

- 細菌尿
⇒尿素分解のためにpHはアルカリに傾く
- ケトン体
⇒揮発性のために偽低値
- 尿沈渣
⇒沈渣成分破壊のために新鮮尿での検査

保存中に変動しやすい項目

-尿検査-

検査項目	変化	原因・生成物など
pH	アルカリ側	細菌増殖によるアンモニアの発生
糖	減少	細菌による消費
ビリルビン	減少	酸素や光による分解
ケトン体	減少	アセトンの空気中への放出
円柱	減少	尿のアルカリ化による溶解

臨床検査手順と精度管理・精度保証

精度保証 (QA)

総合的精度管理 (TQC)

精度管理 (QC)

医師の検査依頼

検体採取 (採血・採尿など)

検体の検査室への搬送

検体処理 (遠心分離など)

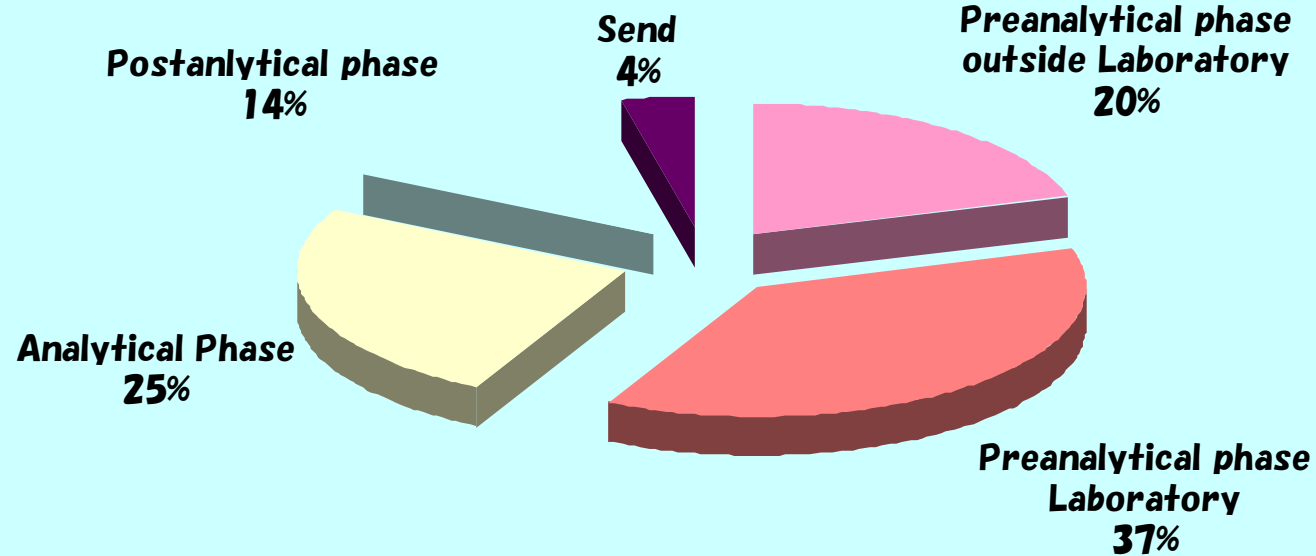
検査・分析

検査値の確認

検査報告

検査結果がでるまでの過程と作業貢献

検査室全体に占める各部門の作業貢献



検体の測定結果は、診断薬・機器を提供する企業と検査室により影響される。

検査値は検査工程ばかりでなく、
検査前工程でも大きく変動する。

項目によっては生理的変動や
サンプリング時の変動は大きく、
誤った臨床解釈をする危険もある。

これらを十分に理解して、検体を扱い、
顧客に適切な情報を返却してほしい。

ご清聴ありがとうございました