

輸血検査

角田 明美

松波総合病院



輸血検査

角田 明美

[松波総合病院]

はじめに

参加施設数は、36 施設（医療機関 33、検査センター 3）で昨年と同様であったが、2 施設の入れ替わりがあった。評価は、日臨技サーベイの結果及び判定・入力方法に準じ、日臨技システムを利用し実施した。

今年度も血液センターの協力を得て、事前供血者検査で不適となった血液製剤（RBC-LR、FFP-LR）を提供いただき、それぞれを混和後、自動機器で対応できるように全血試料とした。また今回は、血液センターから抗血清（IgG）を提供していただき、不規則抗体陽性試料の作製、凝集価と抗体価の試料を IAT 法（間接カラム法）で実施するために使用した。

実施項目と参加施設数

血液型検査[ABO・RhD]：参加 36 施設
 不規則性抗体スクリーニング：参加 26（28）施設
 不規則性抗体同定：参加 16（19）施設
 試験管法による凝集価・抗体価の測定：参加 31（31）施設であった。（ ）は昨年参加施設数

測定試料

血液型検査(ABO・RhD)、不規則性抗体スクリーニング、不規則性抗体同定

<No.51><No.52>は、血液センターの協力を得て、事前供血者検査で不適となった献血者由来の血液製剤 RBC-LR2 名分、FFP-LR2 名分（不規則抗体陽性と陰性）合計 4 名分を提供いただき、それぞれ血球と血漿を比率が約 1:2 になるように混和後、全血試料とした。

また不規則性抗体検査、凝集価・抗体価試料作製用として、血液センターの協力を得て抗血清を提供していただいた。

<No.51>不規則性抗体は、不規則抗体陽性（抗体価 8 倍）の新鮮凍結血漿を使用し、カラム凝集法 2+、試験管法（PEG-IAT 法）3+に調製し試料とした。<No.52>不規則抗体は、不規則抗体陰性の新鮮凍結血漿に抗血清（抗 Dia）を添加し、カラム凝集法 1+、試験管法（PEG-IAT 法）2+に調製し試料とした。

<No.51>

ABO O 型, RhD 陽性
 不規則性抗体スクリーニング 陽性
 不規則性抗体同定 抗 E

<No.52>

ABO B 型, RhD 陰性
 不規則性抗体スクリーニング 陽性
 不規則性抗体同定 抗 Dia

これらの試料については血液型（試験管法・カラム凝集法）、不規則性抗体スクリーニングおよび同定（試験管法による生理食塩水法、PEG-IAT 法、カラム凝集法（LISS-IAT 法、酵素法））を実施し、検査法による誤差が無いが事前に作製者 5 名で検証、確認した。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

<No.53>は、抗 D 血清（IgG）をアルブミン添加生理食塩水で各々の濃度に調整し試料とした。

<No.53-1>

抗 D 血清をアルブミン添加生理食塩水で抗体価 16 倍程度に希釈したもの

<No.53-2>

抗 D 血清をアルブミン添加生理食塩水で抗体価 8 倍程度に希釈したもの

<No.53-3>

抗 D 血清非添加アルブミン添加生理食塩水
 これらの試料について作製者 3 名で検証を行った

実施方法

血液型検査 【輸血 A・B】

日常実施している方法・試薬で実施
 必要に応じて追加検査を実施し、結果考慮の上、血液型判定結果及び凝集価を報告

不規則性抗体スクリーニング 【輸血 B】

生理食塩水法、酵素法、間接抗グロブリン法の各法について、日常実施している方法・試薬で実施し、結果を報告

不規則性抗体同定 【輸血 B】

不規則性抗体の同定が可能な施設においては、同定を実施し、結果を報告

試験管法による凝集価・抗体価の測定 【輸血 A・B】
凝集価

<No.53-1><No.53-2><No.53-3>を 100 μℓ、<No.51>の血球を 1 回洗浄後 3～5%赤血球浮遊液とし 50 μℓ、各試験管にピペットで正確に分注し、37℃で 60 分反応後（反応増強剤無添加）、生理食塩水で 3 回洗浄、抗グロブリン試薬を滴下し、日常使用している判定用遠心機を用いて遠心判定、報告

抗体価

陽性を示した試料において、生理食塩水で倍々希釈し、前述の条件にて実施し、判定、報告

評価基準

以下の基準を元に評価した
未実施は評価対象外、未記入は評価を行わなかった
ABO RhD 血液型判定

<No.51>

ABO：『O 型』を評価 A それ以外は評価 D とした
RhD：『D 陽性』を評価 A それ以外は評価 D とした

<No.52>

ABO：『B 型』を評価 A それ以外は評価 D とした
RhD：『D 陰性』を評価 A

『D 陰性確認試験を実施しないため判定保留』を許容正解で評価 A それ以外は評価 D とした
不規則性抗体スクリーニング判定

<No.51>『陽性』を評価 A それ以外は評価 D とした
<No.52>『評価対象外』とした

不規則性抗体同定

<No.51>『抗 E』を評価 A それ以外は評価 D とした
<No.52>『評価対象外』とした。

<No.52>については、不規則抗体陰性の新鮮凍結血漿に抗血清を添加して不規則抗体陽性試料を作製したが、調製直後は検出できた不規則抗体が、検体配送後に減弱し、検出できない施設があったため、『評価対象外』とした。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

凝集価

<No.53-1>『4+』『3+』を評価 A 『2+』を B 評価 それ以外を評価 D とした

<No.53-2>『4+』『3+』『2+』を評価 A 『1+』を B 評価 それ以外を評価 D とした

<No.53-3>『陰性』を評価 A それ以外を評価 D とした
抗体価

回答数が一番多い希釈から前後 1 管差 A 評価
回答数が一番多い希釈から 2 管差 B 評価
回答数が一番多い希釈から 3 管差 D 評価とした

<No.53-1>

『8 倍』『16 倍』『32 倍』を A 評価
『4 倍』を B 評価 それ以外を D 評価とした

<No.53-2>

『4 倍』『8 倍』『16 倍』を評価 A
『2 倍』を評価 B それ以外を評価 D とした

<No.53-3>

『陰性のため検査不要』『検査不要』を評価 A
それ以外を評価 D とした

結果

<No.51>

血液型検査

ABO 100%

RhD 100%

不規則性抗体検査

スクリーニング[※] 100%

抗体同定 100%（未実施：2 施設）

<No.52>

血液型検査

ABO 100%

RhD 100%（D 陰性：34 施設、判定保留：2 施設）

不規則性抗体検査

スクリーニング[※] 評価対象外

抗体同定 評価対象外

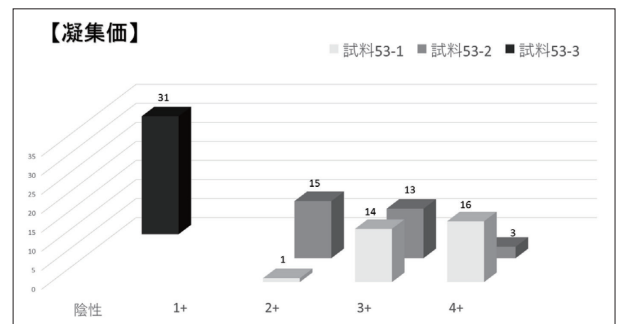
試験管法による凝集価・抗体価の測定

凝集価 <図 1>

<No.53-1> 評価 A 96.8% 評価 B 3.2%

<No.53-2> 評価 A 100%

<No.53-3> 評価 A 100%



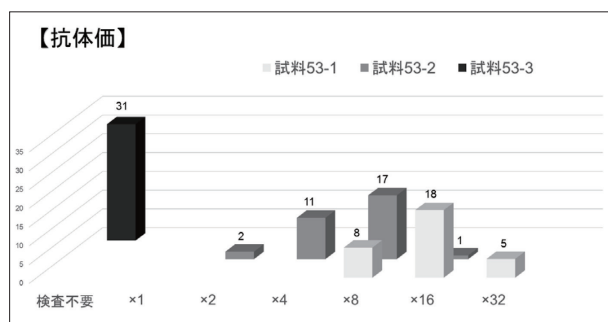
<図 1>

抗体価 <図 2>

<No.53-1> 評価 A 100%

<No.53-2> 評価 A 93.5% 評価 B 6.5%

<No.53-3> 評価 A 100%



<図2>

考察

ABO 血液型

<No.51><No.52>どちらも、正解率 100%であった。

RhD 血液型

<No.52>は RhD 陰性であったが、D 陰性確認試験を実施していない施設が 2 施設あった。そのうち 1 施設は陰性とあったが、RhD 陰性確定は D 陰性確認試験を行う必要があるため、「D 陰性確認試験を実施しないため判定保留」と訂正いただいた。

Rh-Hr コントロール未実施は、昨年 1 施設あったが、今回は未実施の施設はなかった。Rh-Hr コントロールについては「赤血球型検査（赤血球系検査）がトライン（改訂 3 版）」の 4.2.1 に『抗 D 試薬と同時に Rh コントロールを用いて検査を実施する』と明記されており、今回はすべての施設で実施となり、がトラインに沿った血液型検査が行われるようになったといえる。

不規則性抗体スクリーニング判定

<No.51>カラム IAT 法において陰性の施設も数施設みられたが、それらは酵素法の組み合わせによりすべて陽性の最終判定となっていた。試験管法（PEG-IAT 法）・マイクロプレート法では IAT 法検出率は 100%であった。<表 1><表 2>

<No.52>カラム IAT・試験管 PEG-IAT 共に調整直後は検出できていたが、カラム IAT において、検体配送後に著明な反応減弱が見られたため、検出できない施設が 7 施設（27%）あり、不安定検体と判断し、『評価対象外』とした。しかし、73%の施設で検出できており、同定もすべての施設（100%）で抗 Dia を検出できていた。<No.52>も試験管法（PEG-IAT 法）・マイクロプレート法では IAT 法検出率は 100%であった。

<表 3><表 4>

また<No.52>は、提供された新鮮凍結血漿が強乳ビ血漿であったため、その影響により輸血検査機器（カラム凝集法）で液量異常判定となり、試験管法で検査を実施した施設があった。

		酵素法			
		未	陰	陽	
IAT法	陰	0	0	3	3
	陽	15	0	8	23
		15	0	11	26

<表 1> 試料 51 検出状況

総合判定	陽性					
	未実施		陰性		陽性	
酵素法	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
IAT法						
検査方法						
カラム法		7			3	8
マイクロプレート法		2				
試験管法		6				
総計		15			3	8

<表 2> 試料 51 検査方法別検出状況

		酵素法			
		未	陰	陽	
IAT法	陰	6	1	3	10
	陽	9	2	5	16
		15	3	8	26

<表 3> 試料 52 検出状況

総合判定	陰性						陽性					
	未実施		陰性		陽性		未実施		陰性		陽性	
酵素法	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
IAT法												
検査方法												
カラム法	6		1				1		2	3	5	
マイクロプレート法							2					
試験管法							6					
総計	6		1				9		2	3	5	

<表 4> 試料 52 検査方法別検出状況

今回の不規則抗体では、輸血検査機器間で各検査法の検出状況に差が見られ、酵素法のみで検出され、IAT 法で検出されない機種がみられた。該当機種を使用の施設には、機器や試薬についての聞き取りを行った。試験管法（PEG-IAT 法）・マイクロプレート法では IAT 法検出率は 100%であった。臨床的に意義のある不規則抗体を検出するには、PEG を用いた試験管法やマイクロプレートを用いた検出方法は有効であった。また酵素法はがトライン上では必須でないため、近年、酵素法をやめる施設も多いが、酵素法を併用することは、検出率を高める事ができ有用と感じた。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

一次サーベイ評価 D は 1 施設あった。該当施設には一次サーベイ締め切り直後に手技の確認、原因の聞き取り

を行い、直ちに再検査を行っていただいた結果 評価 A となった。また 1 次サーベイ締め切り直後に、記入ミス の申告があり、訂正をしていただき、評価 B が評価 A となった施設があった。

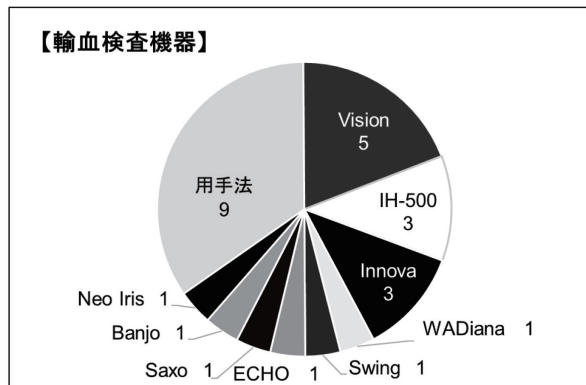
原因の聞き取りや是正報告書から、D 評価施設は凝集判定時の試験管の振り方が強く、凝集を弱く取りすぎる傾向にあった。

また、凝集価・抗体価のサーベイ結果にばらつきを認めたので、各施設に希釈系列作製方法や IAT 法の手技、使用試薬についての各施設への聞き取りを実施した。その結果、施設間で様々であることがわかった。

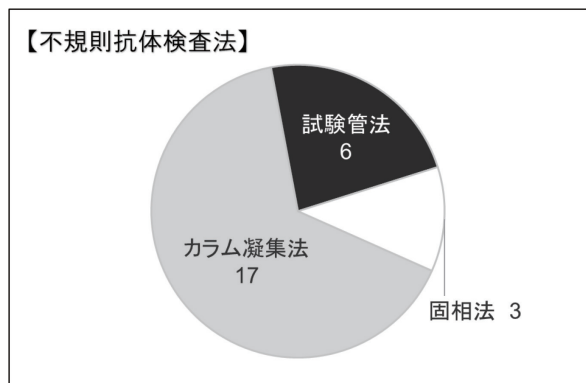
県内の輸血検査の状況

岐阜県内の輸血検査状況を 輸血検査機器<図 3>、不規則抗体検査法<図 4>、酵素法試薬<図 5>、および不規則性抗体検査の検査法別実施状況<表 5>に示す。

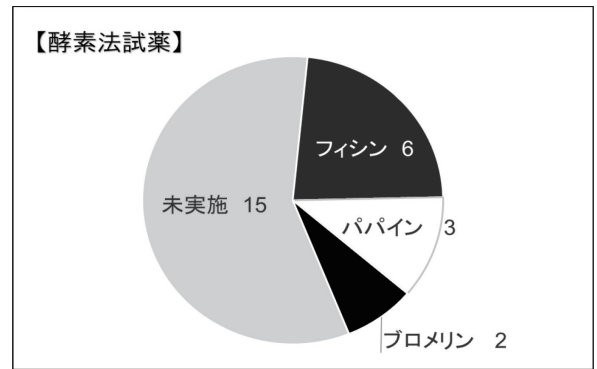
不規則性抗体検査法が昨年はカラム凝集法 20(71%)、固相凝集法 1(3.6%)で、今年ではカラム凝集法 17(65%)、固相凝集法 3(11.5%)とカラム凝集法が減り、固相凝集法が増加した。また酵素法試薬が、昨年は未実施 14(50%)であったが、今年では未実施 15(58%)と酵素法未実施施設が増加した。その他、使用機器・間接抗グロブリン試験反応増強剤、ケムス試薬は昨年と比べ著変は見られなかった。



<図 3>



<図 4>



<図 5>

	生食法	酵素法	ケムス法	組合わせ別実施施設数
実施の有無	未実施	未実施	実施	8
	未実施	実施	実施	10
	実施	未実施	実施	7
	実施	実施	実施	1
検査方法別実施施設数	6	11	26	参加施設 26

<表 5>

まとめ

今年度も、一次報告でのケムス等の確認、評価 C・D の原因を考察し改善する機会を設ける目的で二次サーベイを実施した。一次サーベイ締め切り直後、検査手技などの聞き取りを行い、原因を考察した上で直ちに再検査を実施し、救済期間に結果を入力する形で行った。各施設の検査手技、判定基準、使用機器や試薬などの聞き取りにより、問題点が判明し、改善を行う事で全施設が評価 B 以上となった。一次サーベイの結果を基に行う原因の考察や、改善後の再検査はとても有意義であり、良好な結果が得られたため、次年度も二次サーベイを実施したい。

精度管理試料は日本赤十字社の事前供血者検査で不適となった血液を提供いただいております。不規則性抗体の種類、抗体価は限られた中から選択しなくてはならない。そのため混和、経時的な抗体の減弱は少なからずみられ、適切な試料の確保や作成は毎年の課題であり、精度管理試料として適したものが提供できるよう検討していきたい。また今回、凝集価・抗体価において IAT 法で実施したが、結果に施設間でばらつきを認めたので聞き取りを行った。希釈系列作製 IAT 法の手順に大差はないが、混和方法や希釈でのチップ交換の有無、血球洗浄の方法や使用する生理食塩液など、各施設で様々であることがわかった。輸血検査の標準化の為に、来年度もサーベイでの聞き取りの継続し、実技研修会など手技の再確認ができる場を提供できるよう検討していきたい。