

輸血検査

八木 良仁

岐阜県多治見病院



輸血検査

八木 良仁
[岐阜県多治見病院]

はじめに

参加施設数は、35 施設（医療機関 31、検査センター 3、検診センター 1）で昨年度と参加施設数は同じであった。今回も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た入力・評価を実施した。

血液型判定では、基本的な手技・判定を再確認するべく、明確な判定が実施できる試料を準備した。また、不規則性抗体検査は検出感度を比較するべく低力価の抗体を含有する試料も準備した。さらには昨年度の意見を取り入れ、今年度から自動機器でも対応できるよう全血の試料を準備した

実施項目

血液型検査(ABO・RhD)：参加 35 施設，不規則性抗体スクリーニング：参加 26 施設，不規則性抗体同定：参加 15 施設，試験管法による凝集価・抗体価の測定：参加 30 施設

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

試料No.51, 52 は、全て愛知赤十字血液センターより提供の協力を得て、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-LR, FFP-LR）を混和し使用した。

<No.51>

A 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 抗 Fyb 抗体 (抗 Fyb)

<No.52>

AB 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 抗 S+E 抗体 (抗 S+E)

なお、これらの試料については血液型（各種抗血清による試験管法・スライト法・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，酵素法，PEG 添加間接抗グロブリン法，カラム凝集法）を実施し検査法による誤差が無い事を事前に検証，確認した。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

<試料No.53-1>

<試料No.53-3> 抗 D 血清をアルブミン添加生理食塩水で×8 に希釈したもの

<試料No.53-2>

抗 D 血清非添加アルブミン添加生理食塩水

<試料No.53-3>

抗 D 血清をアルブミン添加生理食塩水で×50 に希釈したもの

実施方法

血液型検査

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・不規則性抗体同定

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，日常で実施している方法・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

試料 53-1, 53-2, 53-3 を 100 μ l，試料 51-C の赤血球浮遊液を 50 μ l ピペットで試験管に正確に分注し 室温 5 分放置後，普段試験管法の判定用で使用する遠心分離機の条件で遠心判定し，各試料における凝集価を報告。また陽性を示した試料において，生理食塩水で試料を倍々希釈し，前述の条件にて抗体価を判定し，報告

評価基準

以下の基準を元に評価した。項目によって『未実施』のものは，評価対象外とした。

なお未記入の項目は『未実施』として扱った。

ABO RhD 血液型判定

<No.51>

ABO：『A 型』で評価 A，『判定保留』を評価 B，それ以外は評価 D

RhD：『D 陽性』で評価 A それ以外は評価 D

<No.52>

ABO：『AB型』で評価 A、それ以外は 評価 D
RhD：『D 陽性』で評価 A、それ以外は 評価 D
不規則性抗体スクリーニング判定

<No.51> 『陽性』で評価 A それ以外は評価 D
<No.52> 『陽性』で評価 A それ以外は評価 D
不規則性抗体同定

<No.51> 『抗 Fyb』で評価 A、それ以外は評価 D
<No.52> 『抗 E』または『抗 S』で評価 A、それ
以外は評価 D。ただし、コメントに詳細を記載され
て『抗体ナシ』と回答された施設は『評価外』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>、
『2+』『3+』を評価 A 『1+』『4+』を評価 B そ
れ以外を評価 D

<No.53-2>
『陰性』を評価 A それ以外を評価 D

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

抗体価

<No.53-1>
『4倍』『8倍』『16倍』を評価 A
『2倍』『32倍』を評価 B それ以外を評価 D

<No.53-2>
『未実施』を評価 A それ以外を評価 D

<No.53-3>
『32倍』『64倍』『128倍』を評価 A
『16倍』『256倍』を評価 B 『1倍』を評価 C そ
れ以外を評価 D

結果

正解率は以下のとおりであった。

<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%

<No.52>

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%

ただし、1 次評価の段階でスクリーニングにおいて『抗体
ナシ』と回答された施設が 2 施設あり、再検査によ
り『陽性』と回答されている。

ABO 血液型うら試験の血球との凝集価の結果を表 1
に示した。

【試料51輸血】うら試験B血球反応			
	カラム凝集法	マイクロプレート法	試験管法
2+	1		3
3+	12		10
4+	1	1	6
総計	14	1	19

<表 1>

うら試験において A1 血球・B 血球に加えて O 型血
球との判定を実施している施設は 5 施設であった。
さらに、ABO 血液型うら試験での O 型血球による
判定の意義・必要性について再考し、検討していた
きたい。

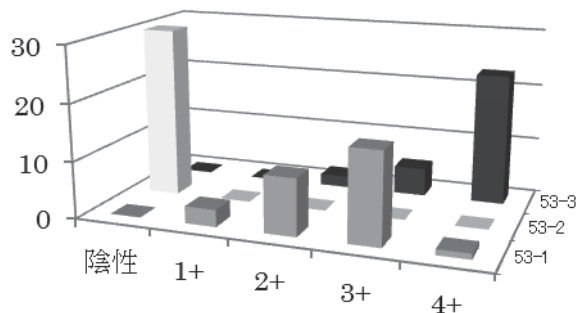
試験管法による凝集価・抗体価の測定
凝集価

<No.53-1> 評価 A 88.6% 評価 B 13.3%

<No.53-2> 評価 A 100%

<No.53-3> 評価 A 93.4% 評価 B 6.7%

報告された凝集価の分布を図 1 に示す。



<図 1>

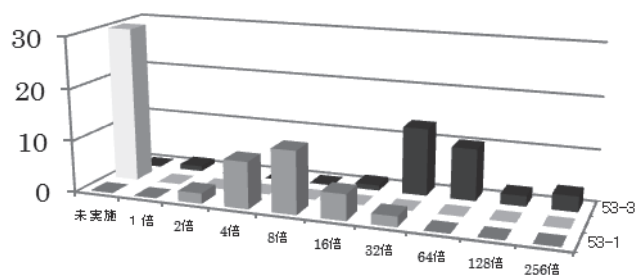
抗体価

<No.53-1>評価 A 86.7% 評価 B 13.3%

<No.53-2> 評価 A 100%

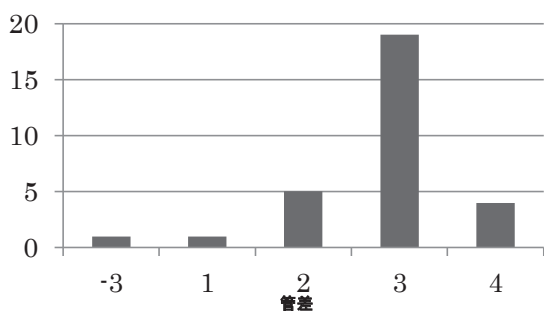
<No.53-3>評価 A 83.4% 評価 B 13.3% 評価 C
3.3%

報告された抗体価の分布を図 2 に示す。



<図 2>

今回は<No.53-1>、<No.53-3>は正確に×8、3管差であったので、試料間の抗体価差を図3に示した。



<図3>

今回は評価しなかったが、3管差以外であった施設は、判定方法など再確認願いたい。1施設で入力ミスと思われる強弱逆転の施設があった。

考察

今年度は、ABO血液型ではおもて・うら不一致が見られない試料、またRhD血液型では両試料とも陽性など、判定に苦慮しない試料であったため良好な結果となったと考えられた。

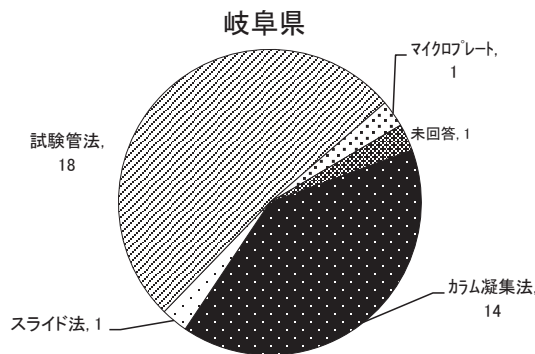
しかし、不規則性抗体検査では、試料52において、含有されている抗体価が弱く抗Sの反応が量的効果を示し、凝接合の血球でしか反応しないレベルであったため検査法によっては、検出が困難だった。加えて血液製剤を譲渡される際に、抗E含有の報告が無かったため、試料作製の検証時に酵素法でのみ抗Eを検出、今回の試料血球は同一ドナーのものではなく、S抗原陰性ではあったが、E抗原陽性の血球を用いたため、抗Eを検出するも抗原陽性のため否定される施設も見られた。今回この理由により回答状況によっては、評価対象外とする事も考えたが、多くの施設で適切な回答を報告されていたので評価対象とさせて頂いた。

実際の患者検体においては、この程度の抗体レベルの場合も少なくないと考えられる。検出方法や感度については各施設で検討して頂きたいと考えられた。

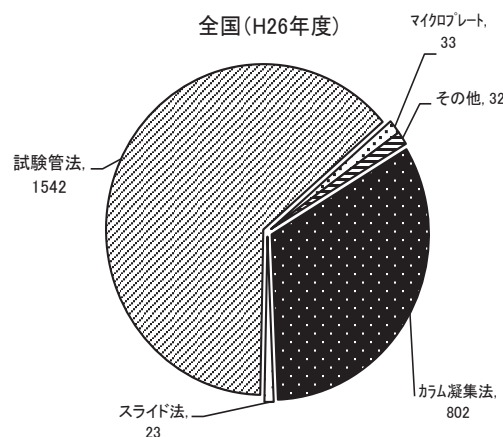
試験管法による凝集価・抗体価については、検体量や反応時間など一定条件での判定としたが、多少のバラツキがみられた。しかし、陰性・陽性の間違いはなく適切に判定されていた。強弱検体3管差以外の抗体価の差を報告された施設は判定手技の再確認が必要と考えられた。

県内の輸血検査状況

血液型検査方法の状況を岐阜県および平成26年度全国の結果を図4、図5に示した。



<図4>



<図5>

試験管法18施設、カラム凝集法が14施設、スライド法が1施設、マイクロプレート法1施設、未回答1施設であった。全国と比較してカラム凝集法の採用が多い傾向であった。スライド法を採用されている施設は、試験管法での判定を推奨する。

また使用する抗血清はモノクローナル抗体によるものであった。

不規則性抗体検査法の状況を表3に示した。

方法	生理食塩水法	酵素法	間接抗グロブリン法	施設数
実施の有無	実施	実施	実施	4
	実施	未実施	実施	2
	未実施	実施	実施	11
	未実施	未実施	実施	9
実施施設数	6	15	26	26

<表3>

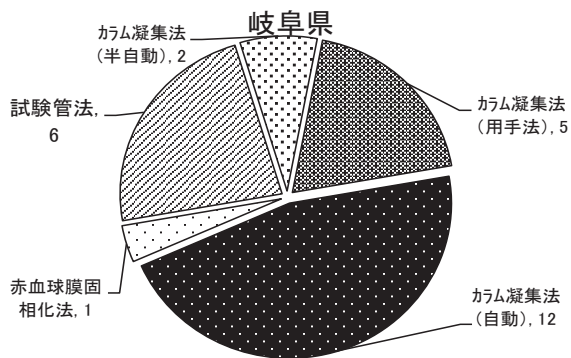
厚生労働省のガイドラインに示されている37℃で反応する臨床的意義のある抗体が検出可能な間接抗グロブリン法は、全ての参加施設で実施されていた。

また、生理食塩水法・酵素法・間接抗グロブリン法の全てを実施が4(6)施設、間接抗グロブリン法のみ実施する施設は9(8)施設、酵素法の実施は15(17)施設となっている。(※()内は昨年度)

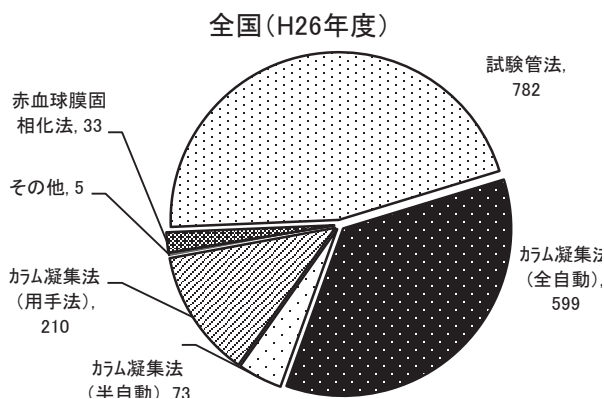
平成26年度の日臨技サーベイでの全国的な実施状況は、

生理食塩水法 50.5%，酵素法 76.2%，間接抗グロブリン法 99.8%であった。

不規則性抗体検査法の方法を図 6，図 7 に示した。



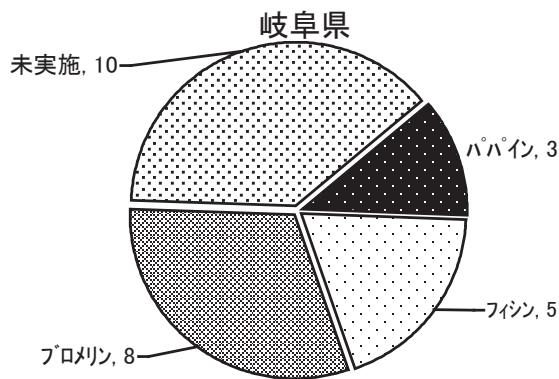
<図 6>



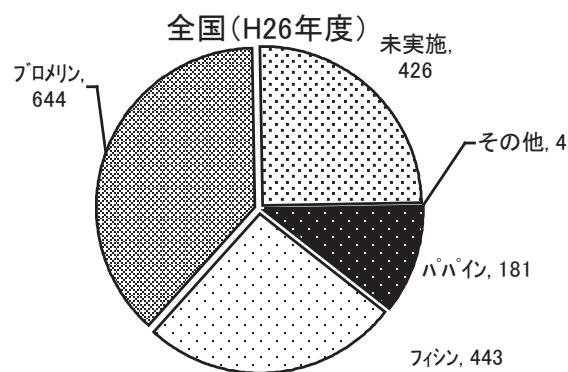
<図 7>

カラム凝集法による血液型判定 14 施設に比べ，不規則性抗体検査 19 施設となった。血液型は試験管法，不規則抗体検査はカラム凝集法という傾向が見られた。平成 26 年度の日臨技サーベイでの全国的な状況は，試験管法 45.9%，カラム凝集法 51.8%，赤血球膜固相化法 1.9%であった。岐阜県はカラム凝集法を採用している施設が全国と比較して多い傾向が見られた。

不規則性抗体検査酵素試薬の状況を図 8，図 9 に示した。試験管法で比較的多く用いられている蛋白分解酵素試薬であるプロモリンを使用している施設が最も多く，カラム凝集法を導入している施設では，パパイソ・フィン処理血球を使用しているが，岐阜県全体の酵素法の実施率は低い。また，全国と比較しても岐阜県は酵素法の実施率は低い傾向が見られた。



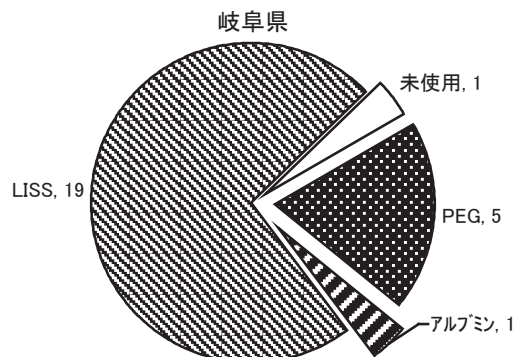
<図 8>



<図 9>

不規則性抗体検査間接ケムス法反応増強剤の状況を図 10，図 11 に示した。

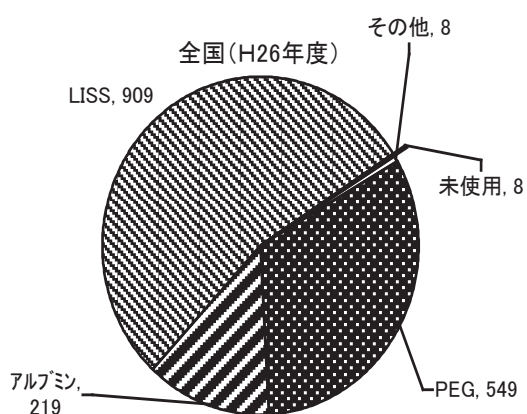
PEG(ポリエチレングリコール)使用が 5 施設，カラム凝集法でよく用いられる LISS (低イオン強度液) が 19 施設，アルブミン 1 施設，未使用 1 施設であった。全国で見ると LISS が 53.3%，PEG が約 32.2%であり，全国と比較して岐阜県はカラム凝集法の比率が高いために LISS を使用する施設が多い傾向が見られた。



<図 10>

い場合も少なくない。また、輸血検査における精度管理は、コントロールサーベイに頼るしかないのが現状である。今後も各施設のさらなる積極的な参加が望まれる。

0572-22-5311 内線 2632



<図 11>

また、今年度更新された日本輸血細胞治療学会の赤血球系検査ガイドラインでは反応増強剤として PEG または LISS を推奨しており、アルブミン法の記載は無くなっている。県内でもアルブミンから PEG または LISS へ移行されている。未だ試験管法でアルブミンを使用されている施設では PEG または LISS の採用を是非検討していただきたい。

まとめ

結果から見る限り、岐阜県内の輸血検査の判定手技は、概ね問題なく実施されていると考えられた。年々、カラム凝集法を採用される施設が増加している。経済的な問題があるが、試験管法に比べ、客観的な判定が可能であることなど有効である。しかし、その特性をよく理解した上で検査に用いて頂きたい。

不規則性抗体検査においては、準備した試料が不適切であったため、混乱を生じてしまった。今後はそのようなことがないように対応したい。しかしながら血液センターからの試料提供がコンプライアンス上の問題により、入手が困難な状況となっている。また、精度管理調査に適した試料の入手が今後の課題である。

日臨技のシステムを採用することにより、従来に比べ、規定入力項目が共通となり容易となったが、昨年同様入力ミスが数件見られた。システムへの入力は、煩雑であるが慎重に実施していただきたい。日頃、オンラインによる結果入力をされている施設は問題ないであろうが、血液型結果をシステムに手入力や伝票に手書き記載して報告されている施設は、このようなことがあると致命的は過誤につながるので注意して頂きたい。

評価対象となる項目と対象外での項目の矛盾などが散見されている。

今年度も一次評価で評価 D となった施設には、再検査等実施され救済措置を実施した上で、再評価を実施した。

輸血検査における異常反応は頻度的に少ないが、検査件数の少ない施設ではサーベイでしか経験できな