輸血検査

樋口　布抄子

可児とうのう病院

輸血検査

樋口　布抄子
［可児とうのう病院］

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）で昨年より1施設減少した。

評価は、日臨技ｻｰﾍﾞｲの結果及び判定・入力方法に準じ、日臨技ｼｽﾃﾑを利用し実施した。

今年度も自動機器で対応できるよう全血の試料を準備したが、血液型と不規則性抗体の一部試料で混和による抗体の減弱が認められた。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することが望ましいが、うら試験の反応が弱い試料があり判定に苦慮する施設があった。また、不規則性抗体検査は不規則性抗体陽性と陰性、各1バッグの新鮮凍結血漿を準備したが、陽性試料で試料調整による反応の減弱が認められたため、評価対象外とした。

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ｸﾞ：参加26施設、不規則性抗体同定：参加16施設、試験管法による凝集価・抗体価の測定：参加29施設であった。

測定試料

血液型検査(ABO・RhD)，不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ

〈No.51〉〈No.52〉の赤血球製剤、〈No.52〉の不規則性抗体陽性血漿製剤は、愛知赤十字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-LR，FFP-LR）、〈No.51〉の血漿製剤は県内施設で規定時間以上の持ち出しにより廃棄となった血漿（FFP-LR）を提供いただき、それぞれ血球と血漿を混和後、全血試料とした。

〈No.51〉
ABO O型，RhD 陽性
不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ　陰性

〈No.52〉
ABO AB型，RhD 陽性
不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ　評価対象外(陽性：抗Fyb)

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・ｽﾗｲﾄﾞ法・ｶﾗﾑ凝集法）、不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ（試験管法による生理食塩水法，酵素法，PEG添加間接抗ｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ法，ｶﾗﾑ凝集法）を3施設で実施し検査法による誤差が無いか事前に検証・確認した。その結果〈No.51〉B血球うら試験は試験管法直後判定で弱反応であったが、室温5分放置や血漿増量で（2＋）以上の凝集が認められ、血液ｾﾝﾀｰによる献血時血液型うら試験も問題なかった事から、FFP製剤の希釈による影響と考えた。また、B亜型否定のため、ｵｰｿ社抗Bを使用した吸着解離試験でB血球陰性の確認を行い、試料として採用した。〈No.52〉不規則性抗体は事前検証の複数検査法で陰性となったため検体不適切とした。それにより〈No.51〉〈No.52〉は抗体同定試料としても不適切となり、同定は凝集価・抗体価測定用試料〈No.53-2〉で行うこととした。

不規則性抗体同定

〈No.53-2〉
不規則性抗体　抗E抗体（抗E）
不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ同様、検証・確認した。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

〈No.53〉の血漿製剤は、愛知赤十字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漿製剤（FFP-LR）で不規則性抗体抗E陽性（抗体価128倍）を提供いただき、ｱﾙﾌﾞ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E陽性血漿非添加ｱﾙﾌﾞﾐﾝ添加生理食塩水

〈No.53-2〉
〈No.53-3〉をｱﾙﾌﾞﾐﾝ添加生理食塩水で 2^5 希釈したもの（5管差相当）

〈No.53-3〉
抗E陽性血漿（抗体価128倍）

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ｸﾞ　【輸血B】

生理食塩水法，酵素法，間接抗ｸﾞﾛﾌﾞ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　〈№53-1〉〈№53-2〉〈№53-3〉を 100μℓ、〈№51〉の血球を 1 回洗浄後 3～5%赤血球浮遊液とし 50μℓ、各試験管にピペットで正確に分注し、37℃で 60 分反応後、生理食塩水で 3 回洗浄、抗ｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ試薬を滴下し、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
〈№51〉
ABO：『O 型』で評価 A　それ以外は評価 D とした
RhD：『D 陽性』で評価 A　それ以外は評価 D とした
〈№52〉
ABO：『AB 型』で評価 A　それ以外は評価 D とした
RhD：『D 陽性』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ｸﾞ判定
〈№51〉
『陰性』で評価 A　それ以外は評価 D とした
〈№52〉
評価対象外
不規則性抗体同定
〈№53-2〉
『抗 E』で評価 A　それ以外は評価 D とした
試験管法による凝集価・抗体価の測定
凝集価
〈№53-1〉,
『陰性』を評価 A　それ以外を評価 D とした
〈№53-2〉
『2+』『3+』を評価 A
『1+』『4+』を評価 B　それ以外を評価 D とした
〈№53-3〉
『4+』を評価 A
『3+』を評価 B　それ以外を評価 D とした
抗体価
〈№53-1〉
『陰性のため検査不要』を評価 A
それ以外を評価 D とした
〈№53-2〉
『2 倍』『4 倍』『8 倍』を評価 A
『1 倍』『16 倍』を評価 B それ以外を評価 D とした
〈№53-3〉
『64 倍』『128 倍』『256 倍』を評価 A
『32 倍』『512 倍以上』を評価 B
それ以外を評価 D とした

結果

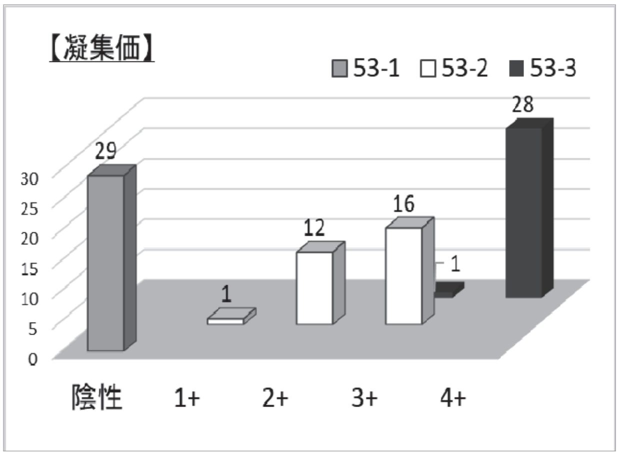
〈№51〉
血液型検査
ABO　100%　　RhD　100%
不規則性抗体検査
ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ　100%

〈№52〉
血液型検査
ABO　100%　　RhD　100%
不規則性抗体検査
ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ　100%

ABO 血液型：〈№51〉は O 型として配布したが、事前検証の段階からうら試験 B 血球との反応が弱く、凝集価を(1＋)と回答した施設が 2 施設あった。血液型うら試験は凝集価（2＋）未満では判定保留とし精査を行う必要があり、精査を行った 1 施設は血清 4 滴滴下し 15 分静置後に遠心判定を行い（3＋）と回答された。また、精査として抗 B による吸着解離試験を行った 1 施設では B 血球が検出されたと連絡があったが、事前に 3 施設で行った吸着解離試験で B 血球は検出されなかったため、B 血球が検出された施設が使用している試薬ﾒｰｶｰに問い合わせたところ、非特異反応が起こる可能性があり実施する上での注意点がいくつかあった。今回のように同じ検査であっても試薬によって用法が異なるため、今一度自施設の試薬を確認いただきたい。
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 2 施設であった。
RhD 血液型：　一次ｻｰﾍﾞｲ C・D 評価が 2 施設あった。1 施設は未入力、1 施設は Rh-hr ｺﾝﾄﾛｰﾙ陽性の判定保留であった。未入力施設には入力を依頼、Rh-hr ｺﾝﾄﾛｰﾙ陽性施設には手技の確認を行い、直ちに再検査を行っていただき A 評価となった。また今回は、評価対象外ではあるが Rh-hr ｺﾝﾄﾛｰﾙ未実施と回答した 4 施設の聞き取り調査も行ったところ、4 施設とも以前からの慣習で実施されていなかった。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）ｶﾞｲﾄﾞﾗｲﾝ（改訂 2 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。と明記されているため、今後検討していただくよう依頼した。

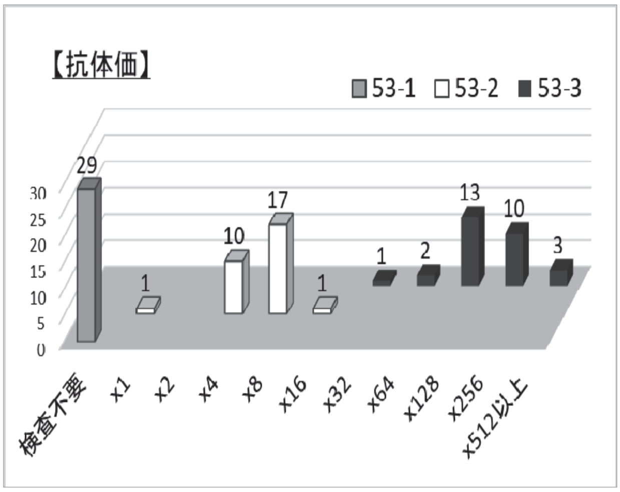
不規則性抗体同定（16 施設）
〈№53-2〉　抗体同定　100%

試験管法による凝集価・抗体価の測定（29 施設）
凝集価
〈№53-1〉　評価 A　100%
〈№53-2〉　評価 A　96.5%　　評価 B　3.5%
〈№53-3〉　評価 A　96.5%　　評価 B　3.5%



＜図１＞

抗体価
〈№53-1〉 評価 A　100%
〈№53-1〉 評価 A　93.1%　　評価 B　6.9%
〈№53-1〉 評価 A　86.2%　　評価 B　13.8%



＜図２＞

一次ｻｰﾍﾞｲ C･D 評価は 2 施設あった。2 施設には手技の確認、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 A･B 評価となった。
原因の聞き取りでは、1 施設は凝集価を（1＋）以下の弱陽性で判定、1 施設は 3 検体同時検査によるコンタミが考えられた。

今回の凝集価は 5 管差を認める〈№53-2〉〈№53-3〉を用いた。

3 管差	2
4 管差	7
5 管差	15
6 管差	4
7 管差	1

＜表１＞

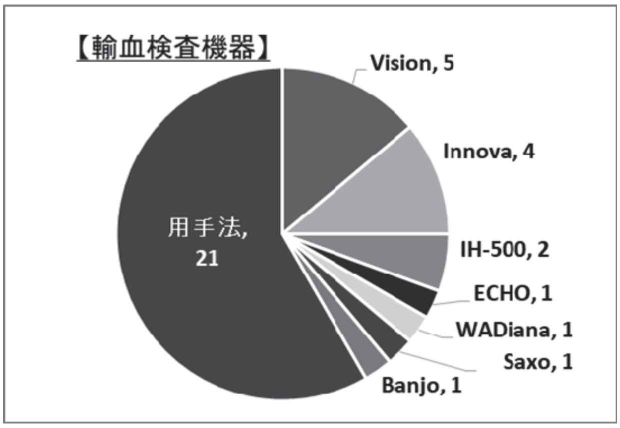
評価対象ではないが、凝集価 5 管差を認める試料を用いた結果、＜表１＞に示す通り 5 管差と報告された施設が最も多かった。3 管差・7 管差と報告された施設はどちらか一方の試料が評価 B となっていた。今回は 60 分ｸｰﾑｽ法での抗体価・凝集価であったため例年とは違い様々な要因で結果のばらつきがみられたと思われる。また＜図２＞に示す通り同一試料における施設間差は収束し、多くの施設が 1 管差内であった。両試料とも低値と報告された施設には聞き取りを行い自動血球洗浄機の不具合と判明したが、洗浄作業を行う検体がほとんどないとの事で、今後血球洗浄が必要な検体に遭遇した場合は、用手法で洗浄を行っていただくよう、手洗浄の手技を伝えた。

県内の輸血検査の状況

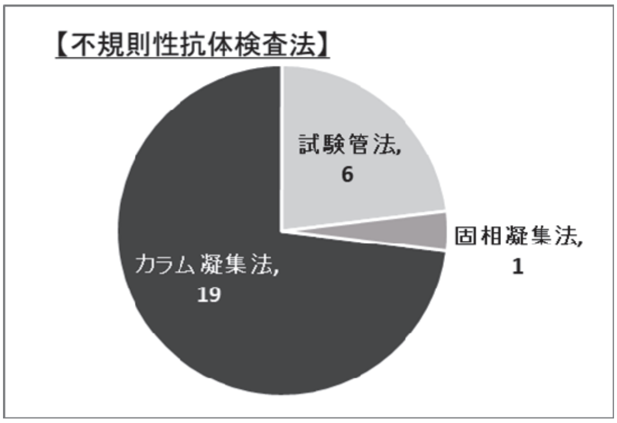
岐阜県内の輸血検査状況を 輸血検査機器状況＜図３＞、不規則性抗体検査法＜図４＞、酵素試薬＜図５＞、間接抗ｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ試験反応増強剤＜図６＞、ｸｰﾑｽ血清の組成＜図７＞、および不規則性抗体検査の検査法別実施状況＜表２＞に示す。

不規則性抗体検査法が昨年は試験管法 14、ｶﾗﾑ凝集法 12 であったが、今年は試験管法 6、ｶﾗﾑ凝集法 19 とｶﾗﾑ凝集法の実施施設が増加した。

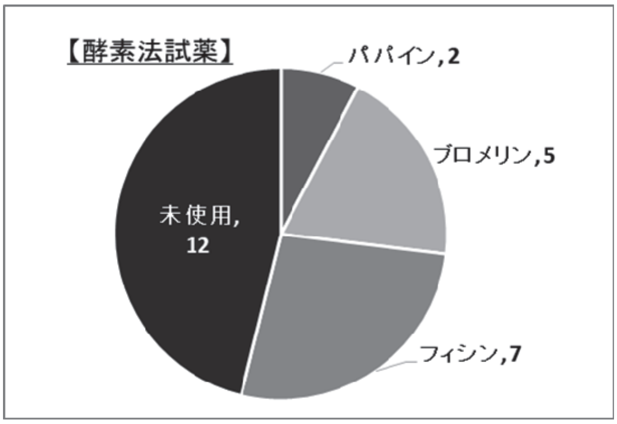
その他、使用機器・試薬については昨年と比べ著変は見られなかった。



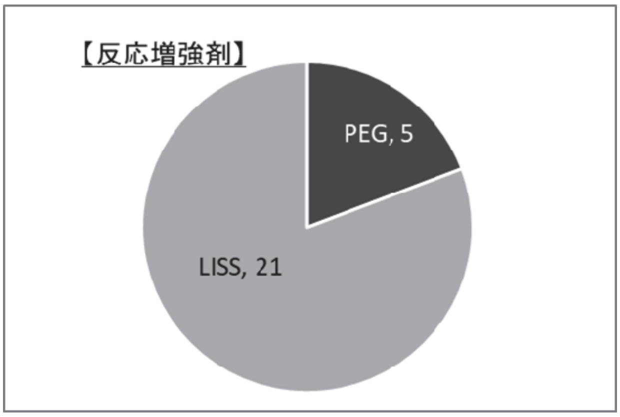
＜図３＞



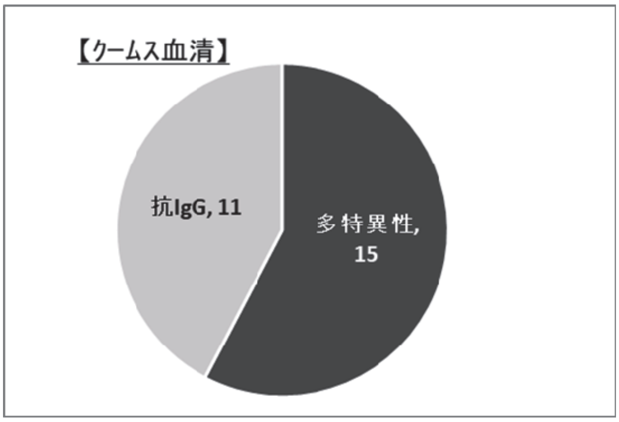
＜図４＞



＜図５＞



＜図６＞



＜図７＞

	生食法	酵素法	ｸｰﾑｽ法	組合わせ別 実施施設数
実施の有無	未実施	未実施	実施	10
	未実施	実施	実施	11
	実施	未実施	実施	3
	実施	実施	実施	2
検査方法別 実施施設数	5	13	26	参加施設 26

＜表２＞

まとめ

今年度は、C･D 評価の施設に対して二次ｻｰﾍﾞｲを実施した。輸血は全血試料で検体を良い状態に保つことが難しく、二次ｻｰﾍﾞｲには適さないため対象外としていたが、一次ｻｰﾍﾞｲ締め切り直後に検体の状態を確認し十分な反応が得られたことより、一次報告でのケアレスミス等の確認を行う目的と、C･D 評価の原因を考察し改善する機会を設ける目的で二次ｻｰﾍﾞｲを行う事とした。輸血の二次ｻｰﾍﾞｲは一次ｻｰﾍﾞｲ締め切り直後、該当４施設に参加の有無と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していただいた。検体が残っていない施設に対しては検体を郵送した。聞き取りで、各施設の機器状況、判定基準などの問題点が判明し、改善を行う事で全施設が B 評価以上となった。さらに今回は、B 評価で二次ｻｰﾍﾞｲ対象外ではあるが他施設と結果が解離していた３施設にも手技の確認を行い、残検体で再検を行っていただくよう依頼した。ｻｰﾍﾞｲは手技を含めて一次で評価されるべきであるかもしれないが、一次ｻｰﾍﾞ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、次年度も二次ｻｰﾍﾞｲを実施したい。

試料は、一部に抗体の減弱が認められ精度管理としては不適切なものが含まれていた。血液型うら試験<No.51>や不規則性抗体ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ<No.52>の抗体減弱は赤血球製剤と混和することで起こる保存液による希釈と、同一供血者ではない製剤の混和による経時的抗体の減弱が原因と考えられた。試料の確保や作成は毎年の課題であるが、輸血検査における異常反応は頻度が少なく、検査件数の少ない施設ではｻｰﾍﾞｲでしか経験できない場合もあるので、精度管理試料として適したものが提供できるよう、抗血清の添加など更なる検討を行います。