

輸血検査

鳥居 知美

大垣市民病院



輸血検査

鳥居 知美
[大垣市民病院]

はじめに

血液センターから提供して頂いた血液製剤と抗血清を用い試料を作製し、血液型、不規則抗体スクリーニング、不規則抗体同定、凝集価・抗体価検査の精度管理を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。

実施項目と参加施設数

参加施設数：32（32）施設

血液型検査[ABO・RhD]：参加 32（32）施設

不規則抗体スクリーニング：参加 28（27）施設

不規則抗体同定：参加 18（16）施設

試験管法による凝集価・抗体価の測定：参加 27（27）

（ ）は昨年参加施設数

測定試料

血液型検査(ABO・RhD)、不規則抗体スクリーニング、

不規則抗体同定

〈No.51〉〈No.52〉は、血液センターから血液製剤 RBC2 名分、FFP2 名分を提供いただき試料を作製した。今年度も昨年同様、血球をアルセバー液と等量混合浮遊液として、血球と血漿を分けて配布試料とした。

〈No.51〉不規則抗体は、不規則抗体陰性の新鮮凍結血漿に、譲渡抗体 抗 S (IgG) を抗体価 16 倍になるように添加して試料とした。〈No.52〉不規則抗体は、不規則抗体陰性の新鮮凍結血漿を試料とした。

〈No.51〉

ABO AB 型, RhD 陽性

不規則抗体スクリーニング 陽性

不規則抗体同定 抗 S

〈No.52〉

ABO O 型, RhD 陰性

不規則抗体スクリーニング 陰性

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）（カラム凝集法による LISS-IAT 法、酵素法）を実施し、検査法による誤差が無いか事前に作製者 3 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、譲渡抗体 抗 D (抗体価 512 倍) を AB 型 RhD 陰性の新鮮凍結血漿に、各種の濃度になるよう調整して試料とした。

血球は〈No.51〉 AB 型 RhD 陽性血球を試料とした。

〈No.53-1〉

AB 型 RhD 陰性 不規則抗体陰性の新鮮凍結血漿

〈No.53-2〉

No.53-1 と同じ新鮮凍結血漿に、抗 D を 8 倍程度になるように添加（実測値 64 倍）

〈No.53-3〉

No.53-1 と同じ新鮮凍結血漿に、抗 D を 32 倍程度になるように添加（実測値 128 倍）

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

不規則抗体スクリーニング【輸血 B】

生理食塩液法、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

不規則抗体同定【輸血 B】

不規則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 $100 \mu \text{l}$ 、〈No.51〉の血球を 1 回洗浄後 3~5% 赤血球浮遊液とし $50 \mu \text{l}$ 、各試験管にピペットで正確に分注し、37°C 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。

評価 A：正解

「基準」をみたしており、優れている

評価 B：正解

「基準」を満たしているが、改善の余地がある

評価 C：不正解

「基準」を満たしておらず、改善が必要

評価 D：不正解

「基準」から逸脱しており、早急な改善が必要

評価対象項目における正解と評価基準を以下に示す。

ABO 血液型

〈No.51〉 正解：AB 型

評価 A:オモテ・ウラ検査の反応、判定に誤りがなく AB 型と判定している

評価 B：該当なし

評価 C:オモテ・ウラ検査の反応、判定に問題があるが AB 型と判定している

評価 D:AB 型以外と判定している

〈No.52〉 正解：O 型

評価 A:オモテ・ウラ検査の反応、判定に誤りがなく O 型と判定している

評価 B：該当なし

評価 C:オモテ・ウラ検査の反応、判定に問題があるが O 型と判定している

評価 D:O 型以外と判定している

RhD 血液型

〈No.51〉 正解：RhD 陽性

評価 A:RhD 陽性と判定している

（抗 D 試薬の反応が 4+、3+かつ Rh コントロール試薬の反応が陰性）

評価 B：D 陰性確認試験は検査不要であるが、D 陰性確認試験を自施設で実施していないを選択している

評価 C：Rh コントロールを使用していない

RhD 陽性と判定しているが、抗 D 試薬の反応が 2+以下

評価 D：RhD 陽性以外と判定している

Rh コントロール試薬の反応が陽性

〈No.52〉 正解：RhD 陰性

評価 A:D 陰性確認試験を実施して RhD 陰性と判定

している

（抗 D 試薬の反応が陰性かつ Rh コントロール試薬の反応が陰性）

D 陰性確認試験を実施していないため判定保留

評価 B：該当なし

評価 C:RhD 陰性と判定しているが D 陰性確認試験

を実施していない

Rh コントロールを使用していない

評価 D：RhD 陰性以外と判定している

Rh コントロール試薬の反応が陽性

不規則抗体スクリーニング

〈No.51〉『陽性』を評価 A それ以外は評価 D とした

〈No.52〉『陰性』を評価 A それ以外は評価 D とした

不規則抗体同定

〈No.51〉『抗 S』を評価 A

それ以外は評価 D とした

〈No.52〉『抗体なし（陰性）』を評価 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

評価 A：最頻値の 1 管差かつ、回答率 10%以上

評価 B：最頻値の 1 管差かつ、回答率 10%未満

評価 C：最頻値の 2 管差以上

評価 D:凝集判定の誤り

（陰性反応を陽性、陽性反応を陰性）

凝集価

〈No.53-1〉『陰性』を評価 A それ以外を評価 D とした

〈No.53-2〉『4+』『3+』を評価 A

『2+』を評価 B

それ以外を評価 D とした

〈No.53-3〉『4+』『3+』を評価 A

それ以外を評価 D とした

抗体価

〈No.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

〈No.53-2〉

『16 倍』『32 倍』『64 倍』を評価 A

『2 倍』を評価 C

それ以外を評価 D とした

〈No.53-3〉

『64 倍』『128 倍』『256 倍』を A 評価

『8 倍』『16 倍』『32 倍』を C 評価

それ以外を D 評価とした

設問別正解率

評価 A、B を正解とした設問別正解率と回答分布を示す。

血液型検査

| | 血液型 | |
|------|------------------|-------------------------------------|
| | ABO血液型 | RhD血液型 |
| 試料51 | 100% (評価 A) | 100% (評価 A 97.1% 評価 B 2.9%) |
| 試料52 | 100% (評価 A) | 100% (評価 A) |

二次サーベイ対象施設なし

不規則抗体検査

| | 不規則抗体 | |
|------|------------------|------------------|
| | スクリーニング | 同定 |
| 試料51 | 100% (評価 A) | 100% (評価 A) |
| 試料52 | 100% (評価 A) | 100% (評価 A) |

(同定未実施：2施設)

二次サーベイ対象施設なし

試験管法による凝集価・抗体価の測定

凝集価

| | 凝集価 |
|--------|-------------------------------------|
| 試料53-1 | 100% (評価 A) |
| 試料53-2 | 100% (評価 A 92.6% 評価 B 7.4%) |
| 試料53-3 | 100% (評価 A) |

二次サーベイ対象施設なし

凝集価（一次サーベイ回答分布）

| 試料番号 | 53-1 | | | 53-2 | | | 53-3 | | |
|------|------|------|----|------|-------|----|------|-------|----|
| | 施設数 | 回答率 | 評価 | 施設数 | 回答率 | 評価 | 施設数 | 回答率 | 評価 |
| 陰性 | 27 | 100% | A | 0 | — | D | 0 | — | D |
| W+ | 0 | — | D | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 1+ | 0 | — | D | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 2+ | 0 | — | D | 2 | 7.4% | B | 0 | — | C |
| 3+ | 0 | — | D | 18 | 66.7% | A | 5 | 18.5% | A |
| 4+ | 0 | — | D | 7 | 25.9% | | 22 | 81.5% | |

試料 53-2 で評価 B となった施設は、抗体価において二次サーベイ対象となったため、凝集価も同時に実施していただいた。再検査後は、評価 A 96.3% (26 施設)、評価 B 3.7% (1 施設) となった。

抗体価

| 抗体価 | 1次サーベイ | 2次サーベイ |
|--------|---------------------------------------|------------------|
| 試料53-1 | 100% (評価 A) | — |
| 試料53-2 | 96.3% (評価 A 96.3% 評価 C 3.7%) | 100% (評価 A) |
| 試料53-3 | 88.9% (評価 A 88.9% 評価 C 11.1%) | 100% (評価 A) |

抗体価（一次サーベイ回答分布）

| 試料番号 | 53-1 | | | 53-2 | | | 53-3 | | |
|--------|------|------|----|------|-------|----|------|-------|----|
| | 施設数 | 回答率 | 評価 | 施設数 | 回答率 | 評価 | 施設数 | 回答率 | 評価 |
| 検査不要 | 27 | 100% | A | 0 | — | D | 0 | — | D |
| 1倍 | 0 | — | D | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 2倍 | 0 | — | D | 1 | 3.7% | C | 0 | — | C |
| 4倍 | 0 | — | D | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 8倍 | 0 | — | D | 0 | — | C | 1 | 3.7% | C |
| 16倍 | 0 | — | D | 5 | 18.5% | A | 1 | 3.7% | |
| 32倍 | 0 | — | D | 16 | 59.3% | | 1 | 3.7% | |
| 64倍 | 0 | — | D | 5 | 18.5% | | 8 | 29.6% | A |
| 128倍 | 0 | — | D | 0 | — | C | 13 | 48.2% | |
| 256倍 | 0 | — | D | 0 | — | C | 3 | 11.1% | |
| 512倍以上 | 0 | — | D | 0 | — | C | 0 | — | |

試料 53-2 では 1 施設が評価 C、試料 53-3 では 3 施設が評価 C となり二次サーベイ対象となった。二次サーベイ実施後は、全ての施設が評価 A となつた。

抗体価（二次サーベイ回答分布）

| 試料番号 | 53-2 | | | 53-3 | | |
|--------|------|-------|----|------|-------|----|
| | 施設数 | 回答率 | 評価 | 施設数 | 回答率 | 評価 |
| 検査不要 | 0 | — | D | 0 | — | D |
| 1倍 | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 2倍 | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 4倍 | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 8倍 | 0 | — | C | 0 | — | C |
| 16倍 | 6 | 22.2% | A | 0 | — | C |
| 32倍 | 16 | 59.3% | | 0 | — | C |
| 64倍 | 5 | 18.5% | | 9 | 33.3% | A |
| 128倍 | 0 | — | C | 15 | 55.6% | |
| 256倍 | 0 | — | C | 3 | 11.1% | |
| 512倍以上 | 0 | — | C | 0 | — | C |

考察

ABO 血液型

〈No.51〉〈No.52〉どちらも、正解率 100% で問題はなかったと考える。

RhD 血液型

〈No.51〉D 陰性確認試験は不要であるが、『自施設で実施していない』と回答した施設があり、評価 B とした。〈No.52〉正解率 100% で問題はなかったと考える。

不規則抗体スクリーニング、同定

〈No.51〉不規則抗体スクリーニングと同定にてすべての施設が陽性と判定できていた。酵素法では陰性、IAT 法で抗 S を検出できており、良好な結果であった。〈No.52〉不規則抗体スクリーニングにてすべての施設が陰性と判定できていた。

今年度も血球と血漿を分け、試料を配布した。それにより安定した抗体価で試料の配布ができたと考えられる。

試験管法による凝集価・抗体価の測定

抗体価にて一次サーベイで評価 C となり二次サーベイ対象となった施設は、3 施設（試料 53-2 3.7%、試料 53-3 11.1%）であった。評価 D となった施設はなかった。3 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、二次サーベイを実施した。また原因の聞き取りにより以下の報告があった。①ブロックタイプの恒温槽を使用し、恒温槽設置場所も空調の真下であったため温度が上がりきらなかった可能性がある。②希釀系列の作成ミス ③施設内の技師間差があった、また凝集判定を低く判定しそうだった。原因の改善を行った結果、すべ

ての施設が評価 A となった。

凝集価では、二次サーベイ対象施設はなかった。試料 53-2 で B 評価となった施設が 2 施設（7.4%）あったが、抗体価において二次サーベイ対象施設であったため、同時に凝集価の再検査もして頂いた。

抗体価では、評価 C で二次サーベイ対象となった施設が試料 53-2 で 1 施設（3.7%）、試料 53-3 で 3 施設（11.1%）という結果であった。二次サーベイでは、全て A 評価となった。手技（希釀系列の作成方法、3~5% 血球浮遊液の調整、試験管の振り方、凝集の観察の仕方など）の再確認が必要であると思われる。

また、低く判定した施設と高く判定した施設では 2 菅差の差が認められた。施設内は必須ではあるが、施設間での凝集の目合わせの必要性があると思われる。

県内の輸血検査の状況

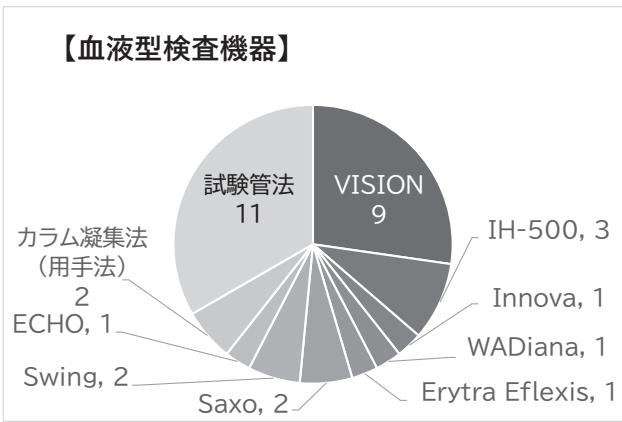
岐阜県内の輸血検査状況を血液型検査機器使用状況〈図 1〉、不規則抗体検査機器使用状況〈図 2〉、不規則抗体検査法〈図 3〉、クームス血清〈図 4〉、反応増強剤〈図 5〉、酵素法試薬〈図 6〉、および不規則抗体検査の検査法別実施状況〈表 1〉に示す。

昨年に比べ、全自动輸血検査装置での測定施設が 2 施設、半自動輸血検査装置での測定施設が 1 施設増加した。

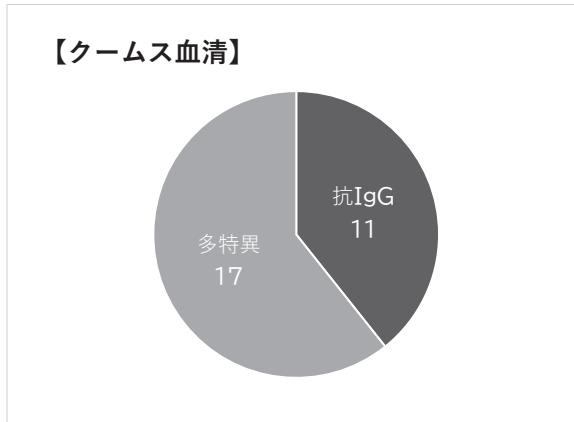
血液型検査では、カラム凝集法が 2 施設増加し、試験管法が 2 施設減少した。検査法の内訳は、カラム凝集法 20 施設（63%）、試験管法 11 施設（34%）、マイクロプレート法 1 施設（3%）であった。

不規則抗体検査法では、カラム凝集法が 1 施設増加した。検査法の内訳は、カラム凝集法 23 施設（82%）、試験管法 3 施設（11%）、マイクロプレート法 2 施設（7%）であった。

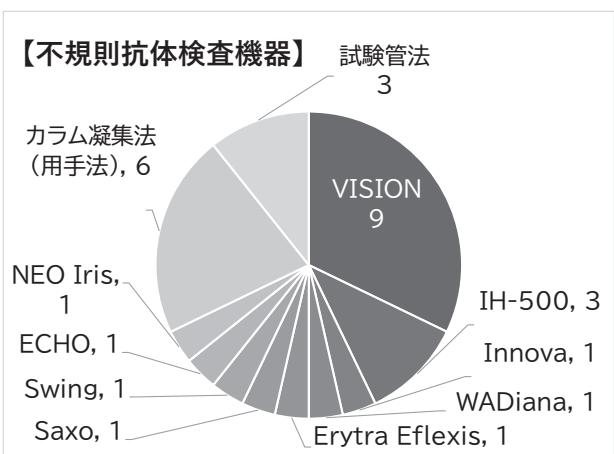
クームス血清の使用状況は、抗 IgG 使用施設が 1 施設減少し、多特異使用施設が 2 施設増加した。反応増強剤では、LISS 使用施設が 1 施設増加した。不規則抗体検査の検査法別実施状況では、昨年度と差はなかった。



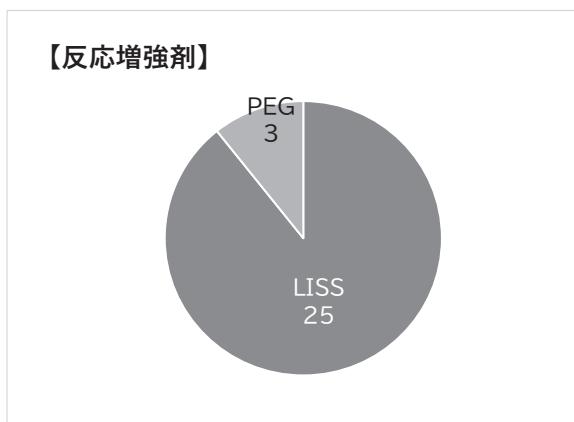
〈図1〉



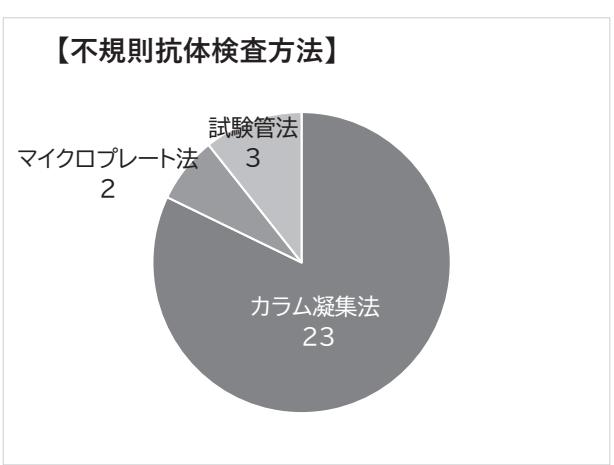
〈図4〉



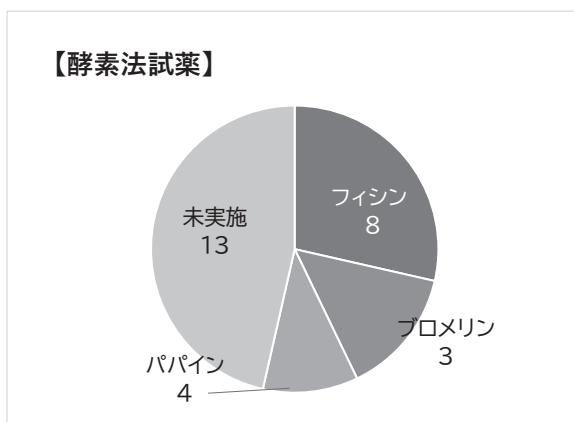
〈図2〉



〈図5〉



〈図3〉



〈図6〉

| | 生理食塩液法 | 酵素法 | クームス法 | 組合せ別実施施設数 |
|------------|--------|-----|-------|-----------|
| 実施の有無 | 未実施 | 未実施 | 実施 | 11 |
| | 未実施 | 実施 | 実施 | 13 |
| 実施 | 未実施 | 実施 | 実施 | 4 |
| 実施 | 実施 | 実施 | 実施 | 0 |
| 検査方法別実施施設数 | 4 | 13 | 27 | 参加施設28 |

<表1>

まとめ

今年度は、評価方法を変更して日臨技、輸血学会の評価基準に合わせた。

血液型検査、不規則抗体スクリーニング、不規則抗体同定においては良好な結果であった。抗体価測定について3施設(11.1%)が評価Cとなった。3施設には二次サーベイを実施し、全施設が評価Aとなった。3施設ともに他施設よりも低い判定をしていた。凝集価・抗体価においては、施設間差が毎年みられるため手技の確認も含め、施設間での凝集の目合わせが必要性であると感じた。また、結果入力では検査方法等の選択ミスも見られたため、結果入力後は入力ミスや不備がないかの確認をして頂きたいと思う。

今年度は、抗体価の試料の調整をAB型新鮮凍結血漿に譲渡抗体を添加して作成したが、計算上の抗体価より実測値が高くなる結果となった。検体調整の難しさを改めて痛感した。適切な試料の確保や作製は毎年の課題であり、今後も精度管理試料として適したもののが提供できるよう努めていきたい。

今後も岐阜県内の輸血検査精度向上のために精度管理を継続して実施していくので、輸血検査を行っている各施設におかれでは、積極的な参加をお願いしたい。