

輸 血 部 門

精度管理事業部員 長谷川 勝俊 藤田保健衛生大学 TEL 0562-93-2534

実務担当者 越知 則予(名古屋市立大学病院)
大矢 健一(愛知県赤十字血液センター)
丹羽 玲子(愛知医科大学病院)
高原 幸恵(名古屋第二赤十字病院)
中井 美千代(中部労災病院)
小木曾 美紀(藤田保健衛生大学病院)

I. はじめに

本年度の輸血部門の精度管理調査では、従来の基本的な項目に加え、凝集反応の判定を実施した。この過程および結果から自施設の現状を見直し、問題点があれば修正し、その結果として全体の標準化へと繋がることを期待するものである。

II. 対象項目

項目は、ABO 血液型検査、Rh₀(D)血液型検査、不規則抗体スクリーニング検査、抗体同定検査、凝集反応判定(凝集の強さ、抗体価)とした。なお、凝集反応判定は参考項目とし評価は行わなかった。

III. 測定試料

試料は2検体(S-1、S-2)を用意し、各々血球と血漿に分離した状態で参加施設へ配布した。手引書によりABO血液型検査、Rh₀(D)血液型検査、不規則抗体スクリーニング検査、抗体同定検査用試料としてS-1を、凝集反応判定用試料としてS-2を使用するよう指示した。

IV. 実施方法

各試料とも手引書に従い検査を実施し、各反応態度および判定結果を回収するとともに抗原表、記録簿の提出を求めた。特に、凝集反応判定は方法の詳細を指示し、同一手順となるようにした。また、同時に各項目について検査方法、使用試薬の調査を行った。

V. 参加施設

輸血検査部門に88施設の参加があり、項目別ではABO・Rh₀(D)血液型：88施設、不規則抗体スクリーニング：80施設、抗体同定：49施設、凝集の強さ判定：77施設、抗体価：73施設であった。

VI. 評価基準と解説

1. 設問1(血液型、不規則抗体)

1) 評価基準

「ABO」：B型を正解とした。ただし、最終判定が正しくても、オモテ・ウラ検査の反応や判定に誤りのあるものは不正解とした。また、検査が適切に行われずに回答している場合は評価不能とした。

「Rh₀(D)」：陰性を正解、判定保留は許容正解とした。ただし、陰性と回答してもD抗原確認試験で抗D対照を実施していない場合は許容正解、D抗原確認試験を実施していない場合は評価不能とした。

「不規則抗体スクリーニング」：酵素法陽性、間接抗グロブリン法陽性、かつ不規則抗体陽性と判定したものを正解とした。

「不規則抗体同定」：抗D抗体を正解とした。その他の抗体については陽性血球を所持していないなどで否定ができていない場合は、コメントがあれば正解とした。なお、否定できない抗体が存在するにもかかわらず、コメント等がなされていない場合は許容正解、抗原表が未提出の場合は、評価不能とした。

2) 解説

この検体はB型Rh₀(D)陰性を示す。ABO検査においてはオモテ、ウラに不一致はみられず、特に追加検査を要することなく判定可能である。Rh₀(D)検査では、抗Dおよび抗D対照との反応で「0」を示し、Rh₀(D)陰性の可能性が考えられる。そのため追加検査としてD抗原確認試験の実施が必要である。結果としては、抗D、抗D対照ともに「0」を示し、Rh₀(D)陰性と判定される。

不規則抗体スクリーニングおよび抗体同定では酵素法、間接抗グロブリン法が陽性を示し、抗D抗体が単独で存在する検体である。抗体同定は正しい手順で行うことが重要であり、追加パネルが不足し否定できない抗体が存在する場合はコメントとして残しておくことが大切である。

VII. アンケート調査結果 -検査方法と使用試薬-

1. 血液型

表1 ABO血液型検査方法と使用試薬

オモテ検査方法と試薬					ウラ検査方法		
検査方法	実施数	%	試薬由来	実施数	検査方法	実施数	%
試験管法	55	62.5	モノクローナル抗体 動物免疫抗体	51 4	試験管法	59	67.1
カラム凝集法	28	31.8	モノクローナル抗体 ヒト由来抗体	25 3	カラム凝集法	28	31.8
スライド(ペーパー)法	3	3.4	モノクローナル抗体	3			
スライド(ガラス板)法	2	2.3	モノクローナル抗体	2			
ホールグラス法	0	0			未実施	1	1.1
合計	88	100	合計	88	合計	88	100

メーカー名回答一覧〔()内回答数〕
 抗 A(B)試薬:オーソ(40)イムコアカイノス(10)三光(2)和光(19)シスメックス(8)オリンパス(9)
 ウラ血球試薬:オーソ(56)イムコアカイノス(13)三光(0)和光(5)シスメックス(1)オリンパス(11)自家調整(2)

参加88施設におけるABO血液型の検査方法と使用試薬の実施数を表1に示す。

ABO オモテ検査の方法は、試験管法が55施設(62.5%)と一番多く、次にカラム凝集法の28施設(31.8%)で、スライド(ペーパー)法は3施設(3.4%)、スライド(ガラス板)法は2施設(2.3%)で実施されていた。使用試薬はモノクローナル抗体が全体の92.0%を占めていた。

ウラ検査の方法は、試験管法が59施設(67.1%)、カラム凝集法が28施設(31.8%)であり、1施設が未実施であった。ウラ検査用血球は、ほとんどの施設が市販血球を使用していたが、2施設で自家調整

血球を使用していた。

参加88施設におけるRh₀(D)血液型の検査方法と抗D試薬の種類および抗D試薬対照(Rhコントロール)の実施数を表2に示す。

Rh₀(D)血液型の検査方法は、試験管法が59施設(67.1%)と一番多く、次いでカラム凝集法が28施設(31.8%)で、スライド(ペーパー)法は1施設(1.1%)、スライド(ガラス板)法は0施設であった。抗D試薬の種類は、モノクローナル抗体が58施設(65.9%)、ヒト由来抗体・モノクローナル抗体ブレンド試薬が28施設(31.8%)、ヒト由来抗体が2施設(2.3%)であった。抗D対照試薬(Rhコント

表2 Rh₀(D)検査方法と試薬

検査方法	実施数	%	試薬種類	実施数	抗D対照試薬	実施数
試験管法	59	67.1	モノクローナル抗体	32	専用試薬	29
			ヒトモノクロブレンド抗体	26	1%アルブミン	6
			ヒト由来抗体	1	7%アルブミン	6
					22%アルブミン	8
					30%アルブミン	1
		未実施		9		
カラム凝集法	28	31.8	モノクローナル抗体	26	専用試薬	23
			ヒトモノクロブレンド抗体	1	7%アルブミン	1
			ヒト由来抗体	1	未実施	4
スライド(ペーパー)法	1	1.1	ヒトモノクロブレンド抗体	1	専用試薬	1
スライド(ガラス板)法	0	0				
合計	88	100	合計	88	合計	88

メーカー名回答一覧〔()内回答数〕
 オーソ(46)イムコアカイノス(4)三光(8)和光(17)シスメックス(4)オリンパス(9)

表3 不規則抗体スクリーニング検査方法の実施数と使用試薬

生食法 (実施 47 施設・未実施 33 施設)						
検査方法	実施数	%	使用試薬			
試験管法	39	83.0				
カラム凝集法	8	17.0				
酵素法(実施 64 施設・未実施 16 施設)						
検査方法	実施数	%	使用試薬			
試験管法	30	46.9	ブロメリン フィシン	29 1		
カラム凝集法	34	53.1	ブロメリン フィシン パパイン	11 14 9		
間接抗グロブリン法(実施 80 施設・未実施 0 施設)						
検査方法	実施数	%	反応増強剤		クームス試薬	
試験管法	40	50.0	LISS	1	多特異	1
			PEG	28	抗 IgG 多特異	17 11
			重合アルブミン	9	多特異	9
			22%アルブミン	2	抗 IgG 多特異	1 1
カラム凝集法	40	50.0	LISS	35	抗 IgG 多特異	19 16
			重合アルブミン	1	多特異	1
			22%アルブミン	2	抗 IgG 多特異	1 1
			未使用	2	抗 IgG	2
メーカー名回答一覧[()内回答数]						
酵素試薬: オーツ(15)イムコアカイノス(12)和光(15)シスメックス(10)オリンパス(11)無回答(1)						
反応促進剤: オーツ(34)イムコアカイノス(20)和光(8)シスメックス(2)オリンパス(14)						
抗ヒトグロブリン試薬: オーツ(32)イムコアカイノス(20)三光(1)和光(7)シスメックス(3)オリンパス(16)						

ロール) は、専用試薬が 53 施設 (60.2%) と最も多かった。抗 D 対照未実施は 13 施設 (14.8%) であった。

2. 不規則抗体

不規則抗体スクリーニングには 80 施設の参加があった。その結果を表 3 に示す。

生食法は 47 施設で実施されており、その中の 39 施設 (83.0%) が試験管法を、8 施設 (17.0%) がカラム凝集法を用いていた。

酵素法は 64 施設で実施されており、その中の 30 施設 (46.9%) が試験管法を、34 施設 (53.1%) がカラム凝集法を用いていた。また、ブロメリンは 40 施設で使用され、方法別では試験管法で 29 施設 (96.7%)、カラム凝集法では 11 施設 (32.4%) であった。カラム凝集法ではブロメリン以外にフィシン 14 施設 (41.2%)、パパイン 9 施設 (26.5%) が用いられていた。

間接抗グロブリン法は回答があった 80 の全施設で実施されていた。検査方法は試験管法が 40 施設 (50.0%)、カラム凝集法が 40 施設 (50.0%) と同数であった。反応促進剤の使用頻度は試験管法ではポリエチレングリコール (PEG) が 28 施設 (70.0%)、カラム凝集法では低イオン強度溶液 (LISS) が 35 施設 (87.5%) とそれぞれ最も高かった。抗ヒトグロブリン試薬 (クームス試薬) は、抗 IgG 試薬が試験管法で 18 施設 (45.0%)、カラム凝集法では 22 施設 (55.0%) で使用されていた。

VIII. 検体の調査結果

1. ABO 血液型

各試薬との凝集の強さ、判定結果の回答数を表 4 に示す。

オモテ検査の回答は、参加した 88 施設すべてが B 型と判定していた。反応態度では、抗 B との反応で 2 施設 (2.3%) が「3+」、2 施設 (2.3%) が「2+」

表4 ABO 血液型の各試薬との反応態度の回答数および判定結果

凝集の強さ	オモテ検査		ウラ検査		
	抗A	抗B	A ₁ 血球	B血球	O血球
4+	0	84	79	0	0
3+	0	2	8	0	0
2+	0	2	1	0	0
1+	0	0	0	0	0
mf	0	0	0	0	0
0	88	0	0	88	41
未実施	0	0	0	0	47
合計 88					
判定	内訳[()内回答数]				
オモテ判定	B型(88)				
ウラ判定	B型(88)				
総合判定	B型(87)、無回答(1)				

表5 Rh₀(D)血液型の各試薬との反応態度の回答数および判定結果

凝集の強さ	直後判定		D抗原確認試験	
	抗D	抗D対照	抗D	抗D対照
4+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0
2+	0	0	0	0
1+	0	0	0	0
W+	0	0	0	0
0	88	74	80	75
未実施	0	13	6	11
無回答	0	1	2	2
合計	88			
最終判定	回答数			
Rh ₀ (D)陽性	0			
Rh ₀ (D)陰性	84			
判定保留	2			
無回答	2			

としていたが、その他は「4+」を示していた。この中で「3+」は試験管法、スライド法が各1施設であり、「2+」は2施設ともスライド法であった。

ウラ検査の回答でもすべての施設がB型と回答していた。反応態度ではA₁血球との反応で「3+」が8施設(9.1%)、「2+」が1施設(1.1%)にみられたが、その他は「4+」としていた。また、0血球対照未実施は47施設(53.4%)であった。

総合判定では87施設(98.9%)がB型と判定したが、1施設(1.1%)は総合判定がされていなかった。

2. Rh₀(D)血液型

Rh₀(D)血液型の各試薬との反応態度の回答数、および判定結果を表5に示す。

Rh₀(D)血液型検査の直後判定は実施した88施設

すべてが抗Dとの反応が「0」であり、Rh₀(D)陰性もしくは判定保留としていた。D抗原確認試験は80施設(90.9%)が実施した。最終判定では、Rh₀(D)陰性が84施設(95.5%)、判定保留が2施設(2.3%)であった。しかし、その中で4施設(4.5%)はD抗原確認試験が未実施でRh₀(D)陰性と判定していた。

3. 不規則抗体

不規則抗体スクリーニング検査における結果の回答数を表6に示す。

不規則抗体スクリーニング検査に参加した80施設中、45施設(56.3%)で生食法が実施された。そのうち2施設(4.4%)が陽性と回答したが、残る43施設(95.6%)は陰性であった。

表6 不規則抗体スクリーニング方法結果の回答数

回答	生食法	酵素法	間接抗グロブリン法
陰性	43	0	2
陽性	2	66	77
未実施	35	14	1
合計	80		

表7 抗体同定問題点一覧

問題点	施設数
追加パネルの実施が不足しており、否定できていない抗体が存在する	9
同定できていない抗体を記入している	7
抗原表が未提出	5
合計	21

酵素法は 66 施設 (82.5%) で実施され、すべての施設が陽性と回答していた。

間接抗グロブリン法は参加したすべての施設で実施され、77 施設 (96.3%) は陽性としたが 2 施設 (2.5%) が陰性であった。また、1 施設で判定が未実施と入力されていた。

抗体同定検査には 49 施設の参加があり、これは不規則抗体スクリーニング検査参加施設の 61.3% であった。48 施設 (98.0%) が抗 D 抗体または抗 D 抗体を含む抗体を回答し、1 施設 (2.0%) が同定不能としていたが、正解は 28 施設 (57.1%) であった。なお、許容正解は 16 施設 (32.7%)、評価不能が 5 施設 (10.2%) であった。

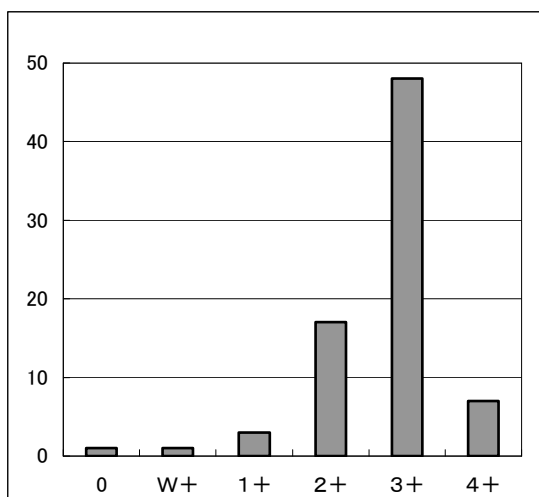
抗体同定にみられた問題点を表 7 に示す。

4. 凝集反応判定

凝集反応判定は血球と血漿との反応について方法を統一して実施し、その凝集の強さおよび抗体価を観察した。

凝集反応判定における凝集の強さ (判定 1) の回答分布を図 1 に示す。結果は、参加 77 施設で「0」

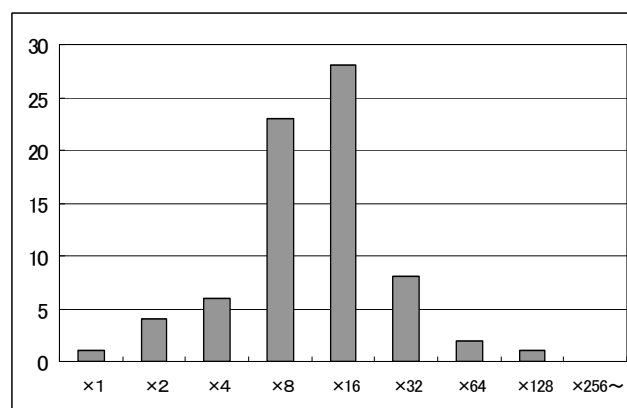
図1 凝集の強さ(判定 1)



から「4+」までに回答があり、「3+」に 48 施設 (62.3%) のピークをもつ分布となり、中央値も「3+」であった。

抗体価 (判定 2) は参加 73 施設で 16 倍に 28 施設 (38.4%) のピークをもつ分布を示しており、中央値は 8 倍となった (図 2)。

図2 抗体価(判定 2)



5. 記録簿等

「抗原表」と「自施設の記録簿」の提出の有無と反応の記載について表 8、表 9 に示す。

不規則抗体検査に参加した 80 施設のうち 53 施設 (66.3%) から抗原表の提出があった。記載内容を確認したところ、試験管で実施しているがクームスコントロールの結果未記入が 4 施設 (7.5%) にみられた。また、抗原表から推察すると同定が正しい手順で行われていないと思われるものが 3 施設 (5.7%) にみられた。

血液型検査の記録簿は参加 88 施設中 56 施設 (63.6%) から提出があった。不規則抗体検査の記録簿は参加 80 施設のうち 44 施設 (55.0%) で提出があった。その中には凝集の強さが記録されていない施設や血液型の凝集を紙上に保存している施設が見受けられた。

表8 抗原表について

抗原表の提出	施設数	問題点 [()内施設数]重複あり
提出	53	クームスコントロールの結果未記入(4)
		同定手順が正しく行われていない(3)
		反応未記入(2)
		陰性を「-」と記入(1)
未提出	27	
未実施のため未提出	8	
合計	88	

表9 記録簿について

記録簿		施設数	検査の記録方法アンケート	回答数
血液型	提出 未提出	56 32	血液型のみ	3
			不規則抗体のみ	5
			交差適合試験のみ	2
			血液型、不規則抗体	13
			不規則抗体、交差適合試験	7
不規則抗体	提出 未提出	44 44	血液型、交差適合試験	4
			血液型、不規則抗体、交差適合試験	17
			すべて記録	31
			記録していない	6
合計		88	合計	88

各施設における記録簿は輸血検査の「すべて記録」との回答が31施設(35.2%)に対し、「記録していない」との回答が6施設(6.8%)であった。

IX. 考察

血液型の検査方法は、試験管法が約60%、カラム凝集法が約30%で昨年とほぼ同じ割合で実施されていた。しかし、カラム凝集法だけで見ると一昨年度が25.9%、昨年度が28.2%で毎年わずかながら増えているようである。これに対し、スライド(ペーパー)法による実施は、ABOオモテ検査で3施設(3.4%)、Rh₀(D)血液型では1施設(1.1%)にみられ、昨年度より減少していた。これまでも指摘してきたが、スライド(ペーパー)法は推奨されていない方法であり、該当施設は見直しをされることをお勧めしたい。これに対し、ABOウラ検査は、試験管法またはカラム凝集法により実施されており、スライド法と回答した施設はみられなかったが、ウラ検査未実施が1施設(1.1%)にみられた。改善傾向は見られているがABO血液型は、オモテ・ウラ検査が一致してこそ判定されるべきであり、ウラ検査実施に向けての対応が望まれる。

不規則抗体の検査方法もカラム凝集法を採用する施設が増えており、今回は40施設(50.0%)で試験管法と同数の施設で実施されていた。これに伴い生食法実施施設は減少しており、カラム凝集法では8

施設であった。

ABO血液型検査は、正解84施設(95.5%)、許容正解3施設(3.4%)と良好な結果であった。今回は判定に際して問題を持たない基本的な試料を提供しており、ほとんどの施設で満足できる回答を得ることができた。しかし、3施設で凝集が「2+」と、他施設より弱い反応を示していた。これらの施設においては結果判定の正確さと同時に凝集判定の標準化にも取り組んでいただきたい。

Rh₀(D)血液型検査は、正解が75施設(85.2%)、許容正解は7施設(8.0%)であり、評価不能であった6施設を除きすべてが許容内と評価された。今回提供した試料はRh₀(D)陰性を示すものである。しかし、8施設(9.1%)でD抗原確認試験が実施されていない。さらに、4施設(4.5%)ではD抗原確認試験未実施でRh₀(D)陰性と回答していた。このような施設においては、Rh₀(D)陰性の確定にD抗原確認試験の実施が不可欠であることを理解しておく必要がある。

不規則抗体スクリーニング検査は、参加80施設中77施設(96.3%)が正解、許容正解を含めると78施設(97.5%)と高い正解率であった。今回の試料は酵素法と間接抗グロブリン法で陽性を示すものであり、最終的に不規則抗体陽性と判定される。不正解となった施設の回答は、不規則抗体陽性としているものの各反応は陰性であり、結果に矛盾が生じて

いた。この原因としては、判定や入力ミスが考えられるため該当施設においては確認をお願いしたい。

抗体同定検査は参加 49 施設中 28 施設 (57.1%) が正解、許容正解を含めて 44 施設 (90.0%) であり、正解率は昨年度より若干低下していた。これは回答の正確さそのものよりも抗原表が提出されない施設の評価ができず、評価不能の割合が上昇したためである。本精度管理事業では、過程を含めた結果を評価しており指定した資料の提出も忘れずをお願いしたい。

また、結果を導き出す過程において問題点もみられた。その 1 つは否定できない抗体が存在することである。これは、追加パネルの実施が不足しており抗体同定が最後まで行われていないためである。パネル血球は期限切れも含めて複数 lot を確保しておくことが望ましい。さらに、否定できない抗体と思われるものにコメントがされずに抗体名が記されているものもあった。このことは、昨年度も指摘した点であり、該当施設においては対応を検討していただきたい。さらに、抗原表の記載を確認したところ抗体同定が正しい手順により行われていないと推察される施設が見受けられた。抗体同定の基本は消去法であることを理解したうえで実施する必要がある。

凝集反応判定は、参考項目として実施したところ概ね良好な結果が得られた。凝集の強さ (判定 1) の回答は、ピーク値の「3+」に 48 施設 (62.3%)、ピーク±1 管 (「2+」～「4+」) に 72 施設 (93.5%) と集約された結果であった。一方、抗体価 (判定 2) はピーク値が 16 倍で 28 施設 (38.4%)、中央値は 8 倍で 23 施設 (31.5%) であり、両者を併せて 51 施設 (69.9%) であった。しかし、一部施設では結果がピーク値や中央値からかけ離れており、これらの施設においては使用している試薬や指示された手順通りに実施したかを含めて操作の見直しをしていただきたい。

検査の記録状況は、「すべて記録」との回答が 31 施設 (35.2%)、「血液型・不規則抗体・交差適合試験を記録」を含めて 48 施設 (54.5%) であった。一方、「記録していない」との回答は 6 施設 (6.8%) であった。検査を実施する上で、その過程で実施した方法やその反応を記録しておくことは重要であり、正しく検査が実施されている証としても記録簿の整備に取り組んでいただきたい。

X. まとめ

今回の精度管理調査は、血液型検査、不規則抗体検査および参考項目として凝集反応判定を実施した。その内容は判定において特に困難を要しない基本的なものを心がけて行った。結果としては、概ね良好と思われ、多くの施設においては基本的な操作や判

定は問題なく実施されているものと推察される。しかし、一部に乖離した結果が見られており、集約に向けて一層の努力を期待したい。輸血検査に要求されることは、第一に基本に忠実であることである。このことを忘れずに、自施設の試薬、操作、判定、記録などが適切に実施されているかを定期的に見直し、検査精度の維持、向上に努めていただきたい。

<MEMO>