

輸 血 検 査 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(日進おりど病院)

はじめに

輸血検査では基本に忠実であることが要求される。本精度管理調査では、輸血検査に必要な基本的な項目を取り上げている。また、本年度も凝集反応の判定を実施した。本精度管理調査から自施設の現状を把握し、検査精度の維持、向上に寄与することを期待するものである。

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なわなかった。

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を使用するように指示した。

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、同時に各項目の検査方法、使用試薬について調査した。

参加施設

輸血検査部門に87施設の参加があり、項目別ではABO・Rh₀(D)血液型：87施設、不規則抗体スクリーニング：80施設、抗体同定：47施設、凝集の強さ判定：77施設、抗体価：75施設であった。

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」：A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、検査が適切に行な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+抗C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A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が可能である。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抗体と抗C抗体が同時に存在する検体である。抗体同定は正しい手順で行な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。

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	54	62.1	モノクローナル抗体 動物免疫抗体	53 1	試験管法	58	66.7
カラム凝集法	29	33.4	モノクローナル抗体 ヒト由来抗体	28 1	カラム凝集法	29	33.3
スライド(ペーパー)法	2	2.3	モノクローナル抗体	2			
スライド(ガラス板)法	1	1.1	モノクローナル抗体	1			
ホールグラス法	1	1.1	モノクローナル抗体	1			
合計	87	100	合計	87	合計	87	100

メーカー名回答一覧[()内回答数]
 抗 A(B)試薬: オーソ(41)イムコアカイノス(10)三光(0)和光(20)シスメックス(8)オリンパス(7)無回答(1)
 ウラ血球試薬: オーソ(60)イムコアカイノス(10)三光(0)和光(3)シスメックス(1)オリンパス(11)自家調整(1)無回答(1)

参加87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54施設(62.1%)と一番多く、次にカラム凝集法の29施設(33.4%)で、スライド(ペーパー)法は2施設(2.3%)、スライド(ガラス板)法は1施設(1.1%)、ホールグラス法は1施設(1.1%)で実施されていた。使用試薬はモノクローナル抗体が85施設で全体の97.7%を占めていた。

ウラ検査の方法は、試験管法が58施設(66.7%)、カラム凝集法が29施設(33.3%)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、1施設で自家調整血球を使用していた。

参加87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56施設(64.4%)と一番多く、次いでカラム凝集法が29施設(33.3%)で、スライド(ペーパー)法は2施設(2.3%)、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52施設(59.8%)、ヒト由来抗体・モノクローナル抗体ブレンド試薬が32施設(36.8%)、ヒト由来抗体が3施設(3.4%)であった。抗D対照試薬(Rhコントロール)は、専用試薬が56施設(64.4%)と最も多く、アルブミンは20施設(23.0%)で使用されていた。

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	56	64.4	モノクローナル抗体	25	専用試薬	28
			ヒトモノクロブレンド抗体	29	1%アルブミン	7
			ヒト由来抗体	2	7%アルブミン	4
					22%アルブミン	6
					30%アルブミン	1
		未実施	10			
カラム凝集法	29	33.3	モノクローナル抗体	26	専用試薬	26
			ヒトモノクロブレンド抗体	2	7%アルブミン	1
			ヒト由来抗体	1	22%アルブミン	1
		無回答	1			
スライド(ペーパー)法	2	2.3	モノクローナル抗体	1	専用試薬	2
			ヒトモノクロブレンド抗体	1		
スライド(ガラス板)法	0	0				
合計	87	100	合計	87	合計	87

メーカー名回答一覧[()内回答数]
 オーソ(50)イムコアカイノス(6)三光(6)和光(14)シスメックス(3)オリンパス(7)無回答(1)

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 44 施設・未実施 37 施設)						
検査方法	実施数	%	使用試薬			
試験管法	38	86.4				
カラム凝集法	6	13.6				
酵素法(実施 66 施設・未実施 15 施設)						
検査方法	実施数	%	使用試薬			
試験管法	32	48.5	プロメリン フィシン	31 1		
カラム凝集法	34	51.5	プロメリン フィシン パパイン	10 15 9		
間接抗グロブリン法(実施 81 施設・未実施 0 施設)			使用試薬			
検査方法	実施数	%	反応増強剤		クームス試薬	
試験管法	42	51.9	LISS	2	抗 IgG 多特異	1 1
			PEG	30	抗 IgG 多特異	20 10
			重合アルブミン	6	抗 IgG 多特異	1 5
			22%アルブミン	4	抗 IgG 多特異	1 3
カラム凝集法	39	48.1	LISS	33	抗 IgG 多特異	15 18
			重合アルブミン	1	多特異	1
			22%アルブミン	1	多特異	1
			未使用	4	多特異	4
メーカー名回答一覧[()内回答数]						
酵素試薬: オーツ(17)イムコアカイン(10)和光(19)シスメックス(8)オリンパス(12)						
反応促進剤: オーツ(32)イムコアカイン(21)和光(9)シスメックス(2)オリンパス(13)						
抗ヒトグロブリン試薬: オーツ(33)イムコアカイン(22)三光(1)和光(9)シスメックス(3)オリンパス(13)						

た。なお、抗 D 対照未実施は 10 施設 (11.5%) であった。

2. 不規則抗体

不規則抗体スクリーニングは 81 施設で実施しているとの回答が得られた。その結果を表 3 に示す。

生食法は 44 施設で実施されており、その中の 38 施設 (86.4%) が試験管法を、6 施設 (13.6%) がカラム凝集法を用いていた。

酵素法は 66 施設で実施されており、その中の 32 施設 (48.5%) が試験管法を、34 施設 (51.5%) がカラム凝集法を用いていた。また、プロメリンは 41 施設で使用され、方法別では試験管法で 31 施設 (96.9%)、カラム凝集法では 10 施設 (29.4%) であった。カラム凝集法ではプロメリン以外にフィシン 15 施設 (44.1%)、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 81 の全施設

で実施されていた。検査方法は試験管法が 42 施設 (51.9%)、カラム凝集法が 39 施設 (48.1%) とほぼ同数であった。反応促進剤の使用状況は、試験管法ではポリエチレングリコール (PEG) が 30 施設 (71.4%)、カラム凝集法では低イオン強度溶液 (LISS) が 33 施設 (84.6%) 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 試薬を試験管法で 23 施設 (55.3%)、カラム凝集法では 15 施設 (38.5%) が使用していた。

・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 87 施設すべてが A 型と判定していた。反応態度では、抗 A との反応で 1 施設 (1.1%) が「3+」としていたが、その他は「4+」を示していた。この中で「3+」を示した施設は、ス

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+	86	0	0	69	0
3+	1	0	0	17	0
2+	0	0	0	1	0
1+	0	0	0	0	0
mf	0	0	0	0	0
0	0	87	87	0	37
未実施	0	0	0	0	50
合計 87					
判定	内訳[()内回答数]				
オモテ判定	A型(87)				
ウラ判定	A型(87)				
総合判定	A型(87)				

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	1	0
0	87	74	80	75
未実施	0	13	6	12
合計	87			
最終判定	回答数	/		
Rh ₀ (D)陽性	0			
Rh ₀ (D)陰性	82			
D変異型	1			
判定保留	4			

ライド法を実施していた。

ウラ検査の回答でもすべての施設がA型と回答していた。反応態度ではB血球との反応で「3+」が17施設(19.5%)、「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、O血球対照未実施は50施設(57.5%)であった。

これらに基づく総合判定では87施設のすべてがA型と判定し、正解率は100%であった。

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87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81施設(93.1%)が実施した。最終判定では、Rh₀(D)陰性が82施設(94.3%)、判定保留が4施設(4.6%)

であり、1施設(1.1%)がD変異型と判定していた。

また、その中で2施設(2.3%)はD抗原確認試験が未実施でRh₀(D)陰性と判定していた。

これらを最終的に評価したところ、正解が74施設(85.1%)、許容正解は10施設(11.5%)であり、1施設(1.1%)が不正解であった。

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、43施設(53.8%)で生食法が実施された。そのうち2施設(4.7%)が陽性と回答したが、残る41施設(95.3%)は陰性であった。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79施設(98.8%)で実施され、すべての施設が陽性と判定していた。

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	41	0	0
陽性	2	66	79
未実施	37	14	1
合計		80	

表7 抗体同定問題点一覧

問題点	施設数
検出されていない抗体がある	2
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ある	8
同定できていない抗体を記入している	5
抗原表が未提出	3
合計	18

これらの検査結果を踏まえた判定では、参加 80 施設すべてが不規則抗体陽性としており、全施設（100%）が正解と評価された。

抗体同定検査には 47 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 58.8%であった。このうち抗 D 抗体はすべての施設で検出されていたが、抗 C 抗体は 44 施設（93.6%）での検出であり、最終的に正解は 30 施設（63.8%）であった。なお、許容正解は 12 施設（25.5%）、評価不能が 3 施設（6.4%）、不正解は 2 施設（4.3%）であった。

抗体同定にみられた問題点を表 7 に示す。

提出された抗原表を参考に確認したところ、2 施設で検出されていない抗体があり、5 施設でコメントもなく同定されていない抗体が記入されていた。

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）について、回答の集計を図 1 に示す。結果は、参加 77 施設で「2+」から「4+」までの回答があり、「4+」が 44 施設（57.1%）と最も多く、「3+」が 30 施設（39.0%）、「2+」は 3 施設（3.9%）であった。

抗体価（判定 2）の参加は 75 施設で、32 倍および 64 倍に各 27 施設（36.0%）のピークをもつ分布を示しており、中央値は 32 倍となった【図 2 参照】。

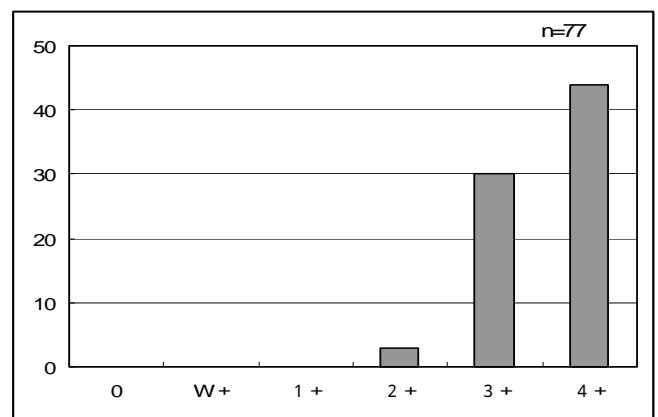


図1 凝集の強さ (判定 1)

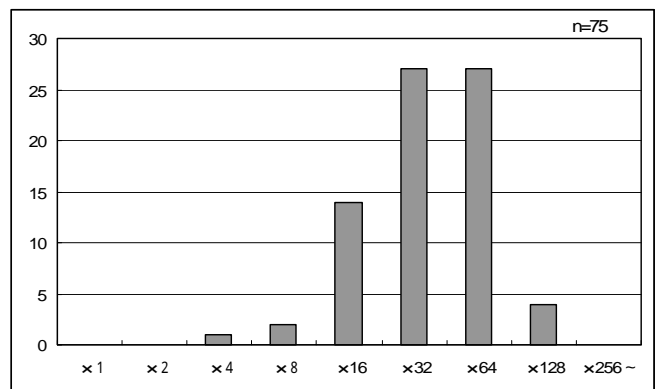


図2 抗体価 (判定 2)

5. 記録簿等

「抗原表」と「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 64 施設（80.0%）から抗原表の提出があった。記載内容を確認したところ、凝集の強さを正しく記入していないものが 5 施設（6.3%）にみられ、1 施設（1.3%）は反応が未記入であった。また、抗原表から推察すると同定が正しい手順で行なわれていないと思われるものが 2 施設（2.5%）にみられた。なお、抗原表未提出は 16 施設（20.0%）であった。

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	64	同定手順が正しく行なわれていない(2)
		反応未記入(1)
		凝集の強さが“0”～“4+”で記入されていない(5)
未提出	16	
未実施のため未提出	7	
合計	87	

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	54 33	血液型のみ	4
			不規則抗体のみ	5
			交差適合試験のみ	0
			血液型、不規則抗体	11
			不規則抗体、交差適合試験	7
不規則抗体	提出 未提出 未実施	40 40 7	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	37
			記録していない	3
合計		87	合計	87

血液型検査の記録簿は 87 施設中 54 施設 (62.1%) から提出があった。また、不規則抗体検査の記録簿は実施 81 施設のうち 40 施設 (49.4%) から提出があった。それらの中には報告書を提出している施設や凝集の強さが記録されていない施設、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。

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 37 施設 (42.5%) に対し、「記録していない」との回答が 3 施設 (3.4%) があった。

考察

血液型の検査方法は、試験管法が 62.1%、カラム凝集法が 33.4% で実施されていた。これを年度ごとにみると、試験管法は一昨年度が 60.0%、昨年度が 62.5% でほぼ横ばいで推移している。一方、カラム凝集法は一昨年度が 28.2%、昨年度が 31.8% で年々わずかであるが増加している。これに対し、スライド (ペーパー) 法による実施は、ABO オモテ検査および Rh₀(D) 血液型で 2 施設 (2.3%) みられ、以前と比較して減少していた。しかし、毎年のように指摘しているが、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。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。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、精度管理調査参加施設の対応の充実と受け止めたい。

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、今回の調査では 39 施設 (48.1%) で昨年に引き続き試験管法とカラム凝集法が半々で実施されている結果となった。これに伴い生食法実施施設は減少しており、44 施設 (カラム凝集法では 6 施設) であった。

ABO 血液型検査は、参加した 87 施設すべてが正解と良好な結果であった。昨年度と同様に今回も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、満足できる回答を得ることができた。さらに、オモテ検査の反応態度をみるとスライド (ガラス板) 法を実施した 1 施設の凝集が「3+」、その他の施設は「4+」と良好であった。

Rh₀(D) 血液型検査は、正解が 74 施設 (85.1%)、許容正解は 10 施設 (11.5%) であり、84 施設 (96.6%) は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、6 施設 (6.9%) で D 抗原確認試験が実施されていなかった。さらに、2 施設 (2.3%) 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。また、1 施設が D 抗原確認試験で抗 D 試薬との反応を「W+」としていた。該当施設においては試薬、手順を確認す

るとともに凝集の判定基準を確認いただきたい。また、時として試薬の反応性により紛らわしい反応を示すことも考えられるので、そのような時には再検査や試薬を変えるなどの試みをしていただきたい。

不規則抗体スクリーニング検査は、参加 80 施設すべてが正解であり、良好な結果であった。今年度は、例年にみられていた判定や入力ミスもなく満足できるものであった。

抗体同定検査は参加 47 施設中 30 施設 (63.8%) が正解、許容正解を含めて 42 施設 (89.4%) であり、正解率は昨年度と同程度であった。抗体同定において例年と同様の指摘ではあるが、今年度もいくつかの問題点がみられた。その 1 つは否定できて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なわれていないためである。したがって、パネル血球は複数 lot を確保し、追加パネル実施に備えておくことが望ましい。また、それでも否定できない抗体が存在するときはコメントとして残しておくことが大切である。精度管理の結果報告は臨床への報告と同様に捉え、必要なコメントは正しく付記していただきたい。さらに、今回は抗 C 抗体が検出されておらず不正解との評価が 2 施設 (2.3%) にみられた。これらの施設では反応パターンにより抗体同定がされており、消去法が行なわれていないものと思われる。抗体同定では正しく消去法を行なわないと、今回のように複数存在する抗体を見逃すことになりかねない。該当施設においては、今一度手順の確認をお願いしたい。

凝集反応判定は、参考項目として実施したところ、図 1 および図 2 に示すように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「4+」に 44 施設 (57.1%) で、「3+」と併せると 74 施設 (96.1%) と収束した結果であった。一方、抗体価 (判定 2) はピーク値が 32 倍および 64 倍で各 27 施設 (36.0%)、両者を併せると 54 施設 (72.0%) とこれも収束した結果であった。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、特に凝集の強さで「2+」と回答した施設や抗体価で 8 倍以下であった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 37 施設 (42.5%)、「血液型・不規則抗体・交差適合試験を記録」を含めて 50 施設 (57.5%) であり、いずれも昨年度をわずかに上回っていた。一方、「記録していない」との回答は 3 施設 (3.4%) で、昨年度の 6 施設 (6.8%) から減少しており、記録簿の整備が進んでいるものと思われる。その背景の 1 つに輸血検査での自動化やコンピュータ化がうかがえる。提出される資料にはコンピュータから出力されている

ものも多い。時代に合わせて上手に活用することで、より充実したものになることが期待される。しかし、その一方で記録簿の整備が遅れている施設もみられた。検査の過程を記録しておくことは重要であり、該当施設では改善に取り組んでいただきたい。

・まとめ

今回の精度管理調査は、昨年度に引き続き血液型検査、不規則抗体検査および凝集反応判定を実施した。その目的としては、輸血検査の基本となる操作や判定が正しく行なわれていることを確認することである。結果としては、概ね良好と思われたが、細部まで含めると問題点がみられた施設もある。その多くは対応可能なものであり、改善に努めていただきたい。また、輸血検査にも自動化やコンピュータ化が進むと同時に試薬の改良も進められている。これらへの対応も怠ることなくマニュアルの整備や定期的な確認を忘れてはならない。今後も検査精度の維持、向上に努めるとともに標準化に向けての対応をお願いしたい。

< M E M O >