

# 輸 血 部 門

## 精度管理事業委員

丹羽 玲子

愛知医科大学附属病院

TEL 0561-61-3125

## 実務委員

左右田 春美

医療法人 豊田会 刈谷総合病院

谷川 美佳子

愛知県赤十字血液センター

# 輸血検査の精度管理調査

## [はじめに]

平成 14 年度の精度管理調査は、12、13 年度から引き続き「基本に戻る」を方針とし、アンケート調査および検体サーベイを実施した。施設の評価については、結果を導き出す過程を重視、不適切と思われる追加検査あるいは未実施での回答については不正解とした。不規則抗体検査においては、結果を記入したアンチグラムを回収し内容を検討した。総合的に輸血検査研究班で討議し、その結果を「輸血班コメント」として各施設の結果報告書に記載した。

## [今年度調査の主目的]

### A. アンケート

検査マニュアルの整備、間接抗グロブリン法の実施方法、遠心機等検査機器の管理、および改善項目の調査等。

### B. サーベイ

ABO 血液型では、オモテ試験において部分凝集「m.f.:mixed field agglutination」を認める検体で、m.f.が観察されているか。また、低温反応性の不規則抗体によりオモテ・ウラ不一致の起る可能性のある検体では、オモテ・ウラ不一致の場合、適切な追加検査を選択し正しく血液型判定を行っているか。不規則抗体では、複数抗体の同定および臨床的意義のある抗体の考え方について。試験管法を実施した施設では、試験管法における血漿滴下量の調査等。

## [配布検体]

Sample-1(S-1)、Sample-2(S-2)の 2 種類の血球・血漿を配布した。

## [サーベイ項目]

ABO 血液型、Rho(D)、不規則抗体検査、および試験管法における血漿滴下量の調査。

## [回答施設数]

アンケート参加は 70 施設、検体サーベイ参加は 67 施設であった。

## [結果]

### A. アンケートについて

#### a. 施設形態

参加施設は、病院が 80%(56/70)、次いで検査センター、大学病院、診療所の順であった(表 1)。

#### b. 病床数

有床では 500 床未満が 62.9%(44/70)、無床は 8.6%(6/70)であった(表 2)。

#### c. 認定輸血検査技師について

認定輸血検査技師のいる施設は、35.7%(25/70)であった(表 3)。

#### d. 検査マニュアルについて

A. アンケート

表 1 a. 1) 施設形態

施設形態	施設数 (%)
病院	56 (80. 0)
検査センター	6 (8. 6)
大学病院	5 (7. 1)
診療所	3 (4. 3)
合計	70

表 2 b. 2) 認可病床数

病床数	施設数 (%)
無床	6 (8. 6)
1～19	2 (2. 9)
20～199	17 (24. 3)
200～499	25 (35. 7)
500～999	16 (22. 9)
1000～	3 (4. 3)
無回答	1 (1. 4)
合計	70

表 3 c. 3) 認定輸血検査技師

人数	施設数 (%)
いない	45 (64. 3)
1名	16 (22. 9)
2名	6 (8. 6)
3名	2 (2. 9)
4名	1 (1. 4)
合計	70

d. 検査マニュアル

表 4 4) 日常業務検査マニュアル

業務検査	施設数 (%)
ある	61 (87. 1)
ない	9 (12. 9)
合計	70

表 5 5) 緊急時検査マニュアル

緊急時検査	施設数 (%)
ある	55 (78. 6)
ない	14 (20. 0)
無回答	1 (1. 4)
合計	70

e. 日常検査の抗グロブリン法(試験管法)

表 6 6) 抗グロブリン法(試験管法)の検査項目

検査項目	施設数 (%)
ある	64 (91. 4)
行っていない	5 (8. 6)
無回答	1 (1. 4)
合計	70

表 7 7) 試験管法判定に使用する遠心機

使用遠心機	施設数 (%)
自動血球洗浄遠心機	30 (46. 9)
輸血検査専用遠心機	28 (43. 8)
兼用遠心機	6 (9. 4)
合計	64

表 8 8) 試験管法判定時の遠心条件

判定時の遠心条件	施設数 (%)
3400rpm15秒	28 (43. 8)
3000rpm15秒	25 (39. 1)
1000rpm1分	9 (14. 1)
1200rpm1分	1 (1. 6)
その他(不明)	1 (1. 6)
合計	64

表 9 9) 血球洗浄方法

血球洗浄方法	施設数 (%)
自動血球洗浄遠心機	49 (76. 6)
用手法	15 (23. 4)
合計	64

表 10 10) 自動血球洗浄遠心機のメンテナンス

メンテナンス	施設数 (%)
随時	12 (24. 5)
月1～2回程度	10 (20. 4)
毎日	6 (12. 2)
2～3ヶ月に1回程度	6 (12. 2)
年1回程度	5 (10. 2)
6ヶ月に1回程度	5 (10. 2)
週1回程度	3 (6. 1)
行ったことがない	2 (4. 1)
合計	49

表 11 11) 遠心器・自動血球洗浄

遠心機の回転数、タイマーの点検

点検	施設数 (%)
行ったことがない	23 (35. 9)
随時	18 (28. 1)
年1回程度	9 (14. 1)
2～3ヶ月に1回程度	5 (7. 8)
月1～2回程度	4 (6. 3)
6ヶ月に1回程度	4 (6. 3)
週1回程度	1 (1. 6)
合計	64

日常検査の手順を文書化したマニュアルについては 87.1%(61/70)、また緊急時の検査マニュアルについては 78.6%(55/70)の施設にあった(表 4、5)。

c. 日常検査の抗グロブリン法(試験管法)について

試験管法での抗グロブリン法は、91.4%(64/70)の施設で行われていた(表 6)。その判定に使用されている遠心機は、自動血球洗浄遠心機が 46.9%(30/64)、輸血検査専用遠心機が 43.8%(28/64)、他の検査と兼用遠心機が 9.4%(6/64)であった(表 7)。判定時の遠心条件は、高速(3400rpm 15 秒の 43.8%(28/64)、3000rpm 15 秒の 39.1%(25/64)) が 82.9%(53/64)、低速(1000rpm 60 秒の 14.1%(9/64)、1200rpm 60 秒の 1.6%(1/64)) が 15.7%(10/64)であった(表 8)。血球洗浄方法では、自動血球洗浄遠心機によるものは 76.6%(49/64)、用手法によるものは 23.4%(15/64)であった(表 9)。自動血球洗浄遠心機のメンテナンスについては、自動血球洗浄遠心機を使用している 49 施設で、随時が 24.5%(12/49)、月 1~2 回程度が 20.4%(10/49)、行ったことがない施設は 4.1%(2/49)あった(表 10)。遠心機の回転数およびタイマーの点検では、35.9%(23/64)の施設が点検を行ったことがなかった(表 11)。試験管法における抗グロブリン法の管理では、87.5%(56/64)の施設でクームスコントロール血球が用いられていた(表 12)。恒温槽は、ウォーターバスが 81.3%(52/64)、ドライバスが 17.2%(11/64)であった(表 13)。恒温槽の温度計での温度点検は、毎日実施しているが 56.3%(36/64) あった(表 14)。

f. 検査試薬について

試薬の Lot・有効期限の記録を付けていない施設は 52.9%(37/70)あった(表 15)。

g. 輸血用血液の取り扱い部門について

在庫管理を行っている 62 施設のうち、輸血用血液の取り扱い部門は検査部(課・科)が 64.5%(40/62)、薬剤部(課・科)が 21.0%(13/62)、輸血部(課・科)が 14.5%(9/62)であった(表 16)。業務の一元化については、75.8%(47/62)の施設で行われていた(表 17)。

h. 平成 12 年度輸血検査精度管理調査以降について

68 施設(今回が初めての参加の 2 施設を除く)のうち、55.9%(38/68)から検査業務で改善した項目があると回答があった(表 18)。そのうち複数の項目を挙げている施設が 31.6%(12/38)あった(表 19)。改善項目の内訳(複数回答有りの 54 件)では、生食(18)、検査結果の記録方法(8)、反応性の観察方法(7)、検体の取り扱い(6)等であった(表 20)。

B. 検体サーベイ

a. 血液型検査実施方法・使用試薬について

ABO 血液型、Rho(D)において、試験管法での実施はオモテ試験 67.2%(45/67)、ウラ試験 79.1%(53/67)、Rho(D)71.6%(48/67)、カラム凝集法での実施は 19.4%(13/67)であった(表 21)。

抗 A、抗 B 試薬については、モノクローナル抗体 95.5%(64/67)、動免 3.0%(2/67)、ヒト由来抗体 1.5%(1/67)で、モノクローナル抗体が 9 割以上で使用された(表 22)。使用した試薬メーカーは表 23 に示す。ウラ試験用血球は、市販血球を 100%(67/67)使用していた(表 24)。使用したウラ試験用血球メーカーは表 25 に示す。

表 12 12) ケームコントロール血球

管理	施設数(%)
使用している	56(87.5)
使用していない	8(12.5)
合計	64

表 13 13) 恒温槽のタイプ

恒温槽のタイプ	施設数(%)
ウォーターバス	52(81.3)
ドライバス	11(17.2)
不明	1(1.6)
合計	64

表 14 14) 温度計での温度測定

点検	施設数(%)
毎日	36(56.3)
随時	7(10.9)
行ったことがない	7(10.9)
年1回程度	3(4.7)
2～3ヶ月に1回程度	3(4.7)
月1～2回程度	3(4.7)
6ヶ月に1回程度	3(4.7)
週1回程度	2(3.2)
合計	64

## f. 検査試薬

表 15 15) 試薬の記録

記録	施設数(%)
していない	37(52.9)
している	33(47.1)
合計	70

## g. 輸血用血液の取り扱い

表 16 16) 取り扱い部門

取り扱い部門	施設数(%)
検査部(課・科)	40(64.5)
薬剤部(課・科)	13(30.0)
輸血部(課・科)	9(14.5)
合計	62

表 17 17) 検査と製剤管理の一元化

一元化	施設数(%)
している	47(75.8)
していない	14(22.6)
予定している	1(16.1)
合計	62

\*在庫管理は行っていない

検査センター 3、診療所 1

\*その他

検査センター 3、診療所 1

## h. 平成 12 年度輸血検査精度管理以降

表 18 18-1) 検査業務で改善した項目

改善項目	施設数(%)
改善項目がある	38(54.3)
特にない	29(41.4)
今回はじめての参加	2(2.9)
無回答	1(1.4)
合計	70

表 19 18-2) H12 年度サーベイ後の改善項目数

前回から参加 67 施設

項目数	施設数(%)
3 項目	5(13.2)
2 項目	7(18.4)
1 項目	24(63.2)
不明	2(5.3)
合計	38

表 20 18-3) 改善項目の内訳(複数回答有り)

項目	施設数
生食	18
検査結果の記録方法	8
反応性の観察方法	7
検体の取り扱い	6
ABO血液型検査	4
試薬の取り扱い	3
不規則抗体検査	3
Rh0(D)血液型	1
その他	2
無回答	2
合計	54

抗 D 試薬は、モノクローナル抗体とポリ・モノクローナル抗体ブレンドで 89.6%(60/67)使用された(表 26)。今年度調査においても、メーカーが販売していない試薬名を回答している施設があった。抗 D 試薬メーカーは表 27 に示す。抗 D 試薬対照が未使用の施設は 23.9%(16/67)に認めた(表 28)。

#### b.不規則抗体検査実施方法・使用試薬について

抗体スクリーニング検査には 91.0%(61/67)の施設が参加した。参加施設の実施方法については、試験管法 70.5%(43/61)、カラム凝集法 29.5%(18/61)であった(表 29)。生食法の未実施は 31.1%(19/61)あり、うちカラム凝集法 24.6%(15/61)、試験管法 6.6%(4/61)であった。酵素法の未実施は 14.8%(9/61)あり、うち試験管法 13.1%(8/61)、カラム凝集法 1.6%(1/61)であった。間接抗グロブリン法は、カラム凝集法で 1 施設実施されなかった(表 30)。

酵素法における酵素の種類ではプロメリンが 76.9%(40/52)使用されていた。方法別における酵素種類の内訳は、試験管法(35)では、プロメリン(34)、フィシン(1)、カラム凝集法(17)では、フィシン(10)、プロメリン(6)、パパイン(1)であった(表 31)。

反応増強剤は、ポリエチレングリコール(PEG) 41.7%(25/60)、LISS 28.3%(17/60)、重合アルブミン 20.0%(12/60)が使用されていた。LISS 使用 17 施設のうち 16 施設はカラム凝集法に使用されていた。

抗ヒトグロブリン試薬は、多特異性 56.7%(34/60)、抗 IgG 43.3%(26/60)が使用されていた。方法別における、抗ヒトグロブリン試薬の内訳は、試験管法(43)で多特異性(27)、抗 IgG (16)、カラム凝集法(17)で多特異性(7)、抗 IgG (10)であった。抗 IgG の使用を反応増強剤別で見ると、PEG の 60.0%(15/25)、LISS の 64.7%(11/17)に使用されていた(表 32)。今年度調査においても、メーカーが販売していない試薬名を回答している施設があった。

#### c.検体サーベイ結果

##### 1.ABO 血液型

S-1 の正解率は、ABO オモテ試験で「m.f.」の回答を必須条件とし、正解 41.8%(28/67)、許容正解 9.0%(6/67)で 50.8%(34/67)あった(表 33)。「m.f.」回答のなかった施設は 47.8%(32/67)に認められた(表 34)。方法別においては、試験管法 48.9%(22/45)、カラム凝集法 28.6%(4/14)、スライド(ペーパー法)においては 100%(5/5)に「m.f.」回答がなかった(表 35)。抗 A との反応性、「m.f.」回答の有無およびオモテ判定との関連では「m.f.」回答のないものの、抗 A と 4 + 以外の反応性となった試験管法で 5 施設、カラム凝集法で 1 施設から判定保留と回答があった(表 36)。

S-2 の正解率は、82.1%(55/67)：「オモテ・ウラ一致」49.3%(33/67)、「オモテ・ウラ不一致」32.8%(22/67)であった。不正解(12)の内訳は、「オモテ・ウラ一致」の場合、無回答(2)、未実施(1)、「オモテ・ウラ不一致」の場合、追加検査未実施での判定(5)、B 亜型(1)、未実施(1)、無回答(1)、そして誤判定(1)であった(表 37、38)。

##### 2.Rho(D)

S-1、S-2 とも正解率は 100%であった(表 39、40)。

表 21 血液型：実施方法

B. 検体サーベイ

検査法	ABO:オモテ(%)	ABO:ウラ(%)	Rh <sub>0</sub> (D)(%)
試験管法	45(67.2)	53(79.1)	48(71.6)
カラム凝集法	13(19.4)	13(19.4)	13(19.4)
スライド <sup>®</sup> (ペーパー法)	5(7.5)	0	4(6.0)
スライド <sup>®</sup> (スライドガラス法)	2(3.0)	0	1(1.5)
ホールガラス法	1(1.5)	0	0
カラム凝集法・スライドガラス法	1(1.5)	0	0
カラム凝集法・試験管法	0	1(1.5)	1(1.5)
合計	67	67	67

表 22 使用試薬：抗 A、抗 B

抗体	回答数(%)
モノクローナル抗体	64(95.5)
動物免疫抗体	2(3.0)
ヒト由来抗体	1(1.5)
合計	67

表 23 抗 A、抗 B メーカー

メーカー名	回答数(%)
オーツ	30(44.8)
和光	15(22.4)
シスメックス	11(16.4)
三光	5(7.5)
カイン	3(4.5)
オリンパス	2(3.0)
無回答	1(1.5)
合計	67

表 24 ウラ血球

血球	回答数(%)
市販血球	67(100)
合計	67

表 25 ウラ血球メーカー

メーカー名	回答数(%)
オーツ	43(64.2)
三光	7(10.4)
カイン	6(9.0)
シスメックス	4(6.0)
和光	3(4.5)
オリンパス	3(4.5)
無回答	1(1.5)
合計	67

表 26 抗 D 試薬

抗体	回答数(%)
モノクローナル抗体	42 <sup>*1</sup> (62.7)
ポリ・モノクローナル抗体プレント <sup>®</sup>	18 <sup>*2</sup> (26.9)
ヒト由来	7(10.4)
合計	67

\*1：内 2 は販売していないメーカー

\*2：内 1 は販売していないメーカー

表 27 抗 D 試薬メーカー

メーカー名	回答数(%)
オーツ	32(47.8)
和光	14(20.9)
シスメックス	8(11.9)
三光	7(10.4)
カイン	3(4.5)
オリンパス	2(3.0)
無回答	1(1.5)
合計	67

表 28 抗 D 対照試薬

対照試薬名	回答数(%)
未使用	16(23.9)
対照専用試薬	33(49.3)
22%アルブ <sup>®</sup> シ	8(11.9)
1%アルブ <sup>®</sup> シ	5(7.5)
7%アルブ <sup>®</sup> シ	4(6.0)
30%アルブ <sup>®</sup> シ	1(1.5)
合計	67

表 29 不規則抗体：実施方法

方法	回答数(%)
試験管法	43(70.5)
カラム凝集法	18(29.5)
合計	61

### 3.不規則抗体

以下の正解率は、アンチグラムの判読結果を考慮していない場合を示す。

抗体スクリーニングについて、S-1における正解 98.3%(59/60)、不正解 1.7%(1/60)であった(表 41)。S-2における正解は、生食法 90.7%(39/43)、酵素法 98.0%(48/49)、間接抗グロブリン法 96.6%(56/58)であった(表 42)。S-1、S-2の両検体とも間接抗グロブリン法の未実施が1施設あった。S-2の抗体同定は、抗体スクリーニング陽性となった39施設が実施し、正解は 71.8%(28/39)、不正解 28.2%(11/39)であった(表 43)。アンチグラム提出率は、参加施設の 66.7%(40/60)であった。アンチグラムの判読結果については、施設別の結果報告書の輸班コメント:不規則抗体を参照。

表には示してはいないが、回答およびアンチグラムとも特に問題が無かった施設は、25.0%(10/40)であった。

### 4.試験管法における血漿滴下量計算値

52施設の参加があり、滴下数からの血漿滴下量計算値は 59~133  $\mu$ l に分布した。最低量と最大量では 2.25 倍の差があった(図 1)。

## C. 判定基準

### 1. S-1 正解基準

●ABO 血液型は、抗 A その他欄あるいは追加連絡欄に[m. f.]の入力が必須条件。Amos、A 亜型、判定保留を正解。今回、 $A_3$ の回答は許容正解。また、判定保留以外は 36)抗 A 被凝集価の測定、37)血漿中 A 型物質の証明、39)A 型転移酵素活性の測定、40)レクチンとの反応の追加検査実施後の回答が必要。

●Rh<sub>0</sub>(D)は陽性が正解。

●不規則抗体スクリーニングは、生食法、酵素法、間接抗グロブリン法とも陰性が正解。

### 2. S-2 正解基準

●ABO 血液型は B 型が正解。オモテ・ウラ不一致の場合、31)ウラ試験で、不規則抗体対応抗原陰性ウラ血球と反応させる 32)ウラ試験で、型物質を用い吸収後検査 33)ウラ血球の Lot を変更後検査、のうち 1 項目の追加検査実施後の回答が必要。

●Rh<sub>0</sub>(D)は陽性が正解。

●不規則抗体スクリーニングは、生食法、酵素法、間接抗グロブリン法で陽性が正解。

●抗体同定は、抗 E、抗 P<sub>1</sub>の順での回答を正解。アンチグラムは消去法、記入法等が正しく行われていること。但し、アンチグラム未提出、未記入の場合、回答には特に問題がなくても、正解となりません。

### 3. 試験管法における血漿滴下量計算値

●100  $\mu$  l 未満は検出感度が低下している可能性があり注意が必要とコメントした。

## D. 解説



表 30 不規則抗体：試験法

	生食法(%)	酵素法(%)	間接ケームス法(%)
未実施	19(31.1)	9(14.8)	1(1.6)
試験管法	4	8	0
カラム凝集法	15	1	1
実施	42(68.9)	52(85.2)	60(98.4)
試験管法	39	35	43
カラム凝集法	3	17	17
合計		61	

表 31 使用酵素とメーカー

酵素名	メーカー	方法名	回答数(%)
ブロミン 40	カインス 13	試験管法	34(65.4)
	和光 11		
	国際 9		
	無回答 1		
	オリンパス 3	カラム凝集法	6(11.5)
	カインス 2		
シスメックス 1			
フィン 11	オーソ 10	試験管法	1(1.9)
		カラム凝集法	10(19.2)
パパイ 1	オリンパス 1	カラム凝集法	1(1.9)
合計		52	

表 32 反応増強剤と抗ヒトγグロブリン試薬

反応増強剤	メーカー	抗γグロブリン試薬	メーカー	方法	回答数(%)
PEG 25	カインス 16 和光 6 オーソ 2 無回答 1	多特異 10	オーソ 3	試験管法 25	25 (41.7)
			和光 5		
		カインス 2	抗 IgG 15	カインス 13	
		和光 1		無回答 1	
LISS 17	オーソ 12 オリンパス 4	多特異 6	オーソ 5	カラム凝集法 16	17 (28.3)
		抗 IgG 10	オリンパス 1		
	オーソ 1	抗 IgG 1	カインス 1	試験管法 1	
	重合アルブミン 12	オーソ 9 三光 1 シスメックス 1	多特異 11	オーソ 7	
シスメックス 1					
三光 1					
和光 1					
無回答 1					
三光 1	多特異 1	オリンパス 1	カラム凝集法 1		
22%アルブミン 4	オーソ 2 シスメック 1 カインス 1	多特異 4	オーソ 2	試験管法 4	4 (6.7)
			シスメックス 1		
			カインス 1		
30%アルブミン 2	シスメックス 2	多特異 2	シスメックス 1	試験管法 2	2 (3.3)
			三光 1		
合計					60

## 1. アンケート調査

輸血検査用機器の管理・メンテナンスは、輸血検査前の精度管理と言えます。輸血検査で共通する機器の精度が揺らいでは、常に正しい検査結果を出せない危険性があります。メンテナンスについてはメーカーの取り扱い説明書に添って行う必要があります。機器の精度管理方法に関しては輸血関連の書籍等に掲載されてはいますが、具体的な方法として Massachusetts General Hospital, MGH における精度管理方法の抜粋を以下に紹介します。(元輸血部所属の坂本美佐技師より提供)

### 1.Heat Block

Heat Block の穴の一つに入っている温度計の温度を業務開始前に記録する。

次の穴に温度計を移しておく。(すべての穴の温度が均等に記録されるように)

### 2.遠心機

遠心数 ; 4 ヶ月毎と納入時と修理後にタコメーターにて測定しラベルを貼付

タイマー ; 6 ヶ月毎と納入時と修理後にストップウォッチにて確認し記録し、ラベルを貼付。

### 3.自動血球洗浄機 ; 1 ヶ月毎に実施し、記録する。

- ・清掃と消毒(試験管の破片や食塩の結晶など取り除くなど)

- ・生食の注入量の確認

- ・ Check cell と Antihuman globulin の検査

- 1)試験管 12 本それぞれに患者血清 2 滴と Check cell 1 滴を入れる。

- 2)3 回洗浄する

- 3)Antihuman globulin 2 滴

- 4)判定(1+ or 2+)

### 4.卓上遠心機と自動血球洗浄機の遠心時間のキャリブレーション

- ・ 1 年に 1 度と納入時と修理後に実施し、記録しラベル貼付。

準備 ; 抗 A 血清を 1:100 に希釈する。

#### 4-1.最適遠心時間の決定。

- 1)2 つの試験管にそれぞれ POS と NEG と書く

- 2)POS に抗 A 血清希釈液 2 滴と A<sub>1</sub> 血球 1 滴

- 3)NEG に抗 A 血清希釈液 2 滴と B 血球 1 滴

- 4)15 秒遠心する

- 5)次の項目をチェックする

- ・ 上清は透き通っていないなければならない

- ・ 沈渣血球ははっきりした輪郭である

- ・ 沈渣血球の外観はなめらかで、ギザギザや毛羽立っていない

- 6)陰性コントロールを判定

- ・ 血球は容易に分散しなければならない

表 33 <S-1>ABO 血液型

	回答率
正解	41.8%(28)
許容正解	9.0%(6)
不正解	49.3%(33)
合計	67

表 34 <S-1>ABO 判定試験の「m. f.」の回答

	回答率	判定	内 訳
m. f. 回答 あり	52.2% (35)	正解	Amos 1.5%(1)
			A 亜型 25.4%(17)
		許容正解	A <sub>3</sub> 9.0%(6)
m. f. 回答 なし	47.8% (32)	不正解	判定保留 14.9%(10)
			未実施 1.5%(1)
			A 31.3%(21)
		A 亜型 6.0%(4)	
		A <sub>3</sub> 1.5%(1)	
		判定保留 6.0%(4)	
未実施 1.5%(1)			
無回答 1.5%(1)			
合計			67

表 35 <S-1>実施方法別における ABO 判定試験の「m. f.」の回答

実施方法	実施数	m. f. 回答 あり	m. f. 回答 なし
試験管法	45	23	22
カラム凝集法	14	10	4
スライド(ペーパー)法	5	0	5
スライド(スライドガラス)法	2	1	1
ホールガラス法	1	1	0
合計	67	35	32

- ・はっきりした陰性

#### 7)陽性コントロールを判定

- ・ 1+ or 2+

8)すべての基準に合ったら Optimal time を 15 秒とする。基準に合わなかった場合は遠心を 20 秒にして 1~7 を行い、基準にあったら Optimal time を 20 秒とするが、基準に合わない場合は使用禁止とする。

#### 4-2.卓上遠心機による Manual Wash の最適遠心時間の決定

1)上記の陰性コントロールの試験管の 3/4 まで生食をいれる。

2)60 秒遠心

3)次の項目をチェックする

- ・ 上清は透き通っていないなければならない
- ・ 沈渣血球ははっきりした輪郭である
- ・ 沈渣血球の外観はなめらかで、ギザギザや毛羽立ってはいはならない

4)すべての基準に合ったら Optimal time を 60 秒とする。基準に合わなかった場合は遠心を 80 秒にして 1~3 を行い、基準にあったら Optimal time を 80 秒とするが、基準に合わない場合は使用禁止とする。

#### 4-3.自動血球洗浄機の Wash の最適遠心時間の決定

1)陰性コントロールを自動血球洗浄機に置く

2)1wash cycle のスイッチを押す(80 秒でセットされている)

3)生食を注入し遠心し、デカントする前にストップさせる。

4)次の項目をチェックする

- ・ 上清は透き通っていないなければならない
- ・ 沈渣血球ははっきりした輪郭である
- ・ 沈渣血球の外観はなめらかで、ギザギザや毛羽立ってはいはならない

5)すべての基準に合ったら Optimal time を 80 秒とする。

注)ラベルには、機器ナンバー、結果、実施者名、実施日を記載すること。

## 2. 検体サーベイ

### 1) ABO 血液型

S-1 は Amos(モザイク)と言われる亜型です。今回は、抗 A との反応で部分凝集「m. f. :mixed field agglutination」を観察されていることが、重要なポイントになります。よって m. f. との入力が有った場合に A<sub>3</sub> の回答は許容正解としました。輸血検査では、特に ABO オモテ試験の m. f. は見逃してはならない重要な反応です。①異型輸血(輸血事故、緊急時の O 型 MAP 製剤輸血後等)、②疾病(骨髄性白血病等)による血液型抗原減弱、③血液型不適合造血幹細胞移植後の生着過程、④亜型(ex. Amos、A<sub>3</sub>、cisAB、キメラ等)などに観察されます。業務上において、m. f. を観察した場合、

表 36 <S-1>方法別における抗 A との反応性、「m. f.」回答、オチ判定の関連

方法	抗 A	抗 A コメント	オチ判定	回答数
試験管法	4 +	m. f.	判定保留	2
	3 +	m. f.	判定保留	7
	2 +	m. f.	判定保留	11
	1 +	m. f.	判定保留	1
	3 +		判定保留	1
	2 +		判定保留	3
	1 +		判定保留	1
	4 +		A型	2
	3 +		A型	7
	2 +		A型	8
	1 +		A型	1
	4 +	m. f.	A型	1
カラム凝集法	3 +	m. f.	判定保留	2
	2 +	m. f.	判定保留	4
	1 +	m. f.	判定保留	3
	未記入	m. f.	判定保留	1
	2 +		判定保留	1
	3 +		A型	1
	4 +		A型	1
スライト <sup>o</sup> (スライト <sup>o</sup> ガラス)法	2 +	m. f.	判定保留	1
スライト <sup>o</sup> ・カラム凝集法	3 +		A型	1
スライト <sup>o</sup> (スライト <sup>o</sup> ガラス)法	2 +		A型	1
スライト <sup>o</sup> (ペーパー)法	4 +		A型	1
	3 +		A型	1
	2 +		A型	3
ホールガラス法	1 +	m. f.	判定保留	1
合計				67

表 37 <S-2>ABO 血液型

	回答率
正解	82.1%(55)
不正解	17.9%(12)
合計	67

優先順位として①→④の順で検討することを推奨します。同時に患者情報として最終輸血歴：輸血歴が有れば輸血された赤血球製剤の血液型および輸血前の患者血液型の再確認(再検査)、移植歴、診断名、出身地等の速やかな収集が大切になります。

オモテ試験用の各社試薬と反応性を比較した場合、「mos」は何れのメーカーおよび抗体の種類(ヒト由来、動免、モノクローナル抗体)が異なっても反応性に変わりなく m. f. を呈します。方法別での反応態度としては、試験管法は、最初に試験管を傾けると非凝集血球は滑らかに流れ出し、管底にはほぼ同じサイズの凝集塊が1個から数個観察されます。スライド法では、数個から十数個のほぼ同じサイズの凝集塊の背景に、非凝集血球が試薬の濁りとして観察されます。凝集部分と非凝集部分は鮮明に分かれる反応(凝集部分が浮き出る感じ)を呈します。カラム凝集法では、陽性像と陰性像が同時(カラム上部と底部に血球を認める)に観察されます。

「血液型抗原減弱」の場合も、mos と同じ様な反応態度を呈しますが、診断名が重要な手掛かりとなります。また、経過観察(白血病では緩解期に輸血の影響が無くなった時点で再検査等)も必要となります。

「異型輸血、異型での移植後、キメラ」においても、mos と同じ様な反応態度を呈します。但し、混合比率に左右はされますが混在しているそれぞれの血球の抗原性はほとんど正常なため、mos よりは比較的凝集塊が大きく強固で数が少ない(試験管法では非凝集血球の中に凝集塊は1つのみ認めることもあります)傾向があります。

「A<sub>3</sub>、B<sub>3</sub>、cisAB(A<sub>2</sub>B以外)」では、メーカーおよび抗体の種類によって m. f. を認めない反応態度を呈することがあり(輸血検査の実際改訂第3版 P45 参照)、凝集塊のサイズは不揃いになる傾向があります。

以上、オモテ試験用試薬との反応性の特徴を示しましたが、日常業務において m. f. を観察した場合、患者情報を速やかに収集し(特に転送患者や輸血事故の可能性の有無)、精査の優先順位を決定します。精査項目としては、各社試薬との反応性の比較、レクチンとの反応性、被凝集価、転移酵素活性、型物質、他の血液型検査、ABO 混合血球の分離(凝集部分と非凝集部分の血液型検査)、フローサイトメトリー、遺伝子検査等を組み合わせて行います。但し、医療機関ではほとんど検査対象が健常人ではないため、血液型抗原減弱を否定することは困難な状況と言えます。

今回の Amos(S-1)の場合、抗 A との反応態度は、試験管法では、最初に試験管を傾けると非凝集血球は滑らかに流れ出しますが管底にはほぼ同じサイズの凝集塊が数個観察されます。スライド法では、いくつものほぼ同じサイズの凝集塊の背景に、非凝集血球が試薬の濁りとして観察されます。カラム凝集法では、陽性像と陰性像が同時(カラム上部と底部に血球を認める)に観察されます。参考資料として検体 S-1 の血清学的検査結果を表 a~f に、フローサイトメトリー解析を図 a に示します。また、表 g では愛知県下での献血者から、ABO 亜型検出数のなかでは [mos] が比較的多く検出されていることが分かります。亜型の判定には、時間がかかるため臨床的に輸血が必要となる場合は、抗体側から反応しない型を選択することになります。

S-2 は低温反応性抗体の抗 P<sub>1</sub> により「オモテ・ウラ不一致」が起こる可能性のある検体です。「オモテ・ウラ不一致」の異常現象が起こった場合、「亜型」の可能性は稀で、特にウラ試験に予想され

表 38 <S-2>ABO 血液型:内訳

	回答率	判定	内訳
オテ・ウラ一致	53.7%(36)	正解 : 49.3%(33)	B 49.3%(33)
		不正解 : 4.5%(3)	無回答 3.0%(2) 未実施 1.5%(1)
オテ・ウラ不一致	44.8%(30)	正解 : 32.8%(22)	B 17.9%(12) 判定保留 14.9%(10)
		不正解 : 11.9%(8)	B* 7.5%(5) B 亜型 1.5%(1) 未実施 1.5%(1) 無回答 1.5%(1)
誤判定	1.5%(1)	不正解 : 1.5%(1)	A 1.5%(1)
合計		67	

\* 追加検査未実施、オテ・ウラ不一致のままでの判定

表 39 <S-1>Rh<sub>0</sub>(D)

回答	回答率
正解 : 陽性	100%(67)

表 40 <S-2>Rh<sub>0</sub>(D)

回答	回答率
正解 : 陽性	100%(66)

表 41 <S-1>抗体スクリーニング

回 答	回答率
正解 : 陰性*	98.3%(59)
不正解 : 陽性** 抗 Di <sup>a</sup> 抗体	1.7%(1)
合計	60

\* 内 1 施設は間接抗グロブリン法未実施

\*\* 間接抗グロブリン法のみ陽性

る以上の反応を認めた場合は、今回のように低温反応性の抗体(特に抗 P<sub>1</sub>、抗 M 抗体)によることが多いと考えます(第 41 回中部医学検査学会抄録集 P 173 参照)。「オモテ・ウラ不一致」の対応例については、参考資料の図 b~d に示しました。

血液型検査での回答方法については、最終結果である ABO 判定入力(記入)欄に、未実施、無回答では不適切であり、血液型判定を行わない場合は「判定保留」とします。

## 2) Rh<sub>0</sub>(D)

S-1、S-2 とも D 陽性です。Rh<sub>0</sub>(D) 抗原検査を行う際には、試薬対照を並行して行わないと異常現象を見逃す危険性があるため注意が必要です。

## 3) 不規則抗体

S-1 の不規則抗体検査は陰性です。

S-2 で臨床的意義の高い不規則抗体は抗 E 抗体、次いで抗 P<sub>1</sub> 抗体です。生食法未実施の施設の多くは(特にカラム凝集法)抗 E のみ検出されます。但し、同定検査において生食法を実施したにもかかわらず、抗 P<sub>1</sub> 抗体を同定不能とされた施設は、同定方法を再検討されることをお勧めします。抗 P<sub>1</sub> 抗体は、臨床的には意義が低いとされていますが、今回のように血液型判定に影響を及ぼすことがあり、血液型を正しく判定する上でも、生食法を室温・直後遠心とされるよりは 22℃15 分後遠心判定と一定にされることを勧めます。アンチグラムに記入があった生食法の条件は、4℃、5℃、15℃、room で時間条件不明、15℃15 分、22℃15 分で温度・時間条件とも記入と実に様々でした。抗体同定を行っていない施設においても、ABO 血液型でウラ試験に予想される以上の反応を認める「オモテ・ウラ不一致」の場合、スクリーニング血球を用い生食法を 22℃15 分の条件で再検を行うと、低温反応性の抗体の存在が判明することがあります。また型物質で吸収する際、血清と吸収試薬の比率で血清に生食を添加し対照とし、希釈効果を確認する必要があります。

提出されたアンチグラムでは、主に反応性の記入方法、消去法等について、正しく実施されているかを判読し輸血班コメントとしました。反応性の記入法は、たとえば 0(ゼロ)溶血および凝集無し)、4+(1 つの凝集塊)のように数字、記号で表記します。消去法では、消去する根拠が分かるように反応性 0 の血液型抗原の+表記に斜線を引いていきます。方法別での反応性、量的効果等の観点を踏まえその抗原が存在しないと判断されれば、アンチグラム最上段の抗原表記に斜線を引き消去します。このように、後に確認を行っても消去した過程が分かるような表記および記録を残すことが必要です。

## 4) 試験管法における血漿滴下量計算値

血漿滴下量計算値は 59~133  $\mu$ l に分布し、100  $\mu$ l を下回った施設が 51.9%(27/52)ありました。赤血球凝集反応(抗原抗体反応)の最適比は、抗原:抗体が 1:80(血球 1.5  $\mu$ l (3%50  $\mu$ l) : 血清 120  $\mu$ l)とされています。輸血検査での検体量は 1 滴 $\approx$ 50  $\mu$ l とされており、通常は 3%血球浮遊液 1 滴に対し血清 2 滴で行います。抗体価が低い場合、反応を増強させるのに 4 滴法を行うこともあります。よって、滴下量が 100  $\mu$ l 未満では抗体量が不足し感度が低下する可能性があります。逆に血清量が過剰であれば、イオン強度に影響される LISS を含む試薬を使用する場合、試薬との比率を通常方法と同じにする必要があるため注意が必要です。



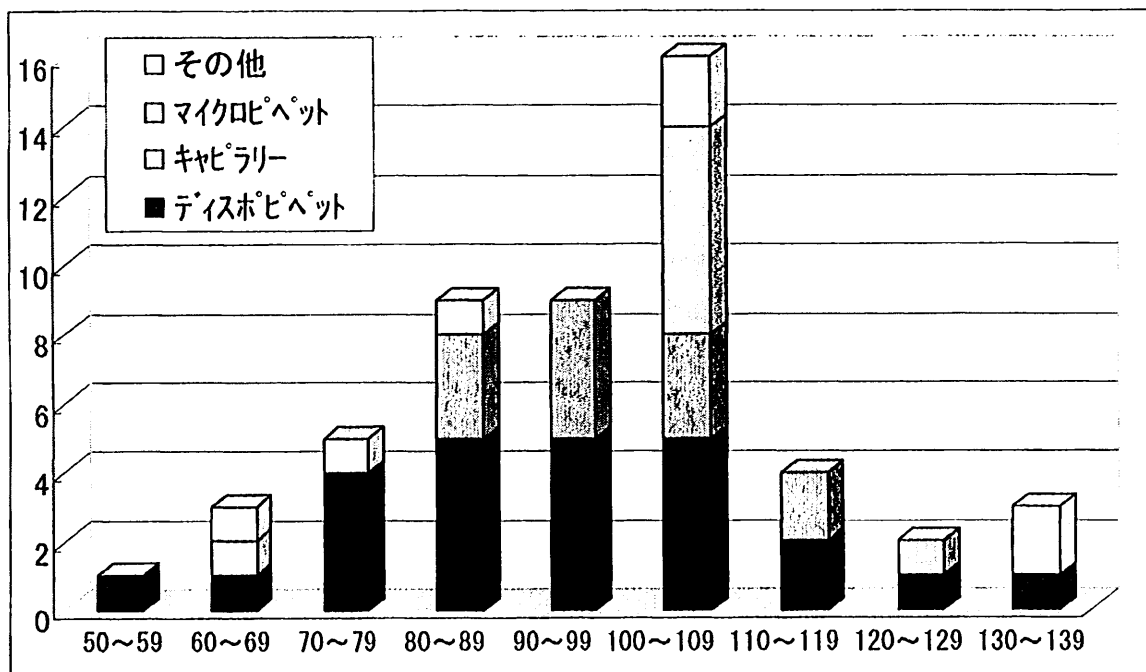
表 42 <S-2>抗体スクリーニング

項目	参加	回答	回答率
生食法	実施 43 (未実施 16)	正解 : 陽性	90.7%(39)
		不正解 : 陰性	9.3%(4)
酵素法	実施 49 (未実施 10)	正解 : 陽性	98.0%(48)
		不正解 : 陰性	2.0%(1)
間接抗グロブリン法	実施 58 (未実施 1)	正解 : 陽性	96.6%(56)
		不正解 : 陰性	3.4%(2)
参加数	59		

表 43 <S-2>抗体同定

回答	回答率
正解 抗E + P <sub>1</sub>	59.0%(23)
抗E (生食法未実施)	12.8%(5)
不正解	28.2%(11)
不正解内訳	
抗E + 同定不能	7
抗P <sub>1</sub> + E	1
抗E + c (スモール)	1
抗E + L e <sup>a</sup>	1
抗E + D i <sup>a</sup> + 同定不能	1
合計	39

図 1 血漿滴下量  
(施設数)



(検体量:  $\mu$  l)

## E. 総評

ABO 血液型判定をオモテ試験のみで判定している施設は、H13 年度精度管理調査からは認められなくなりました。

アンケート調査では、輸血検査の検査結果を保障するための精度管理として、H12、13 年度は検体の取り扱い、試薬の取り扱い、検査結果の記録法等について、H14 年度は検査用機器の管理・メンテナンスについて行いました。今年度の検査用機器の管理等については、まだ改善の余地があると考えます。試薬についての回答から、特に抗 D 試薬における抗体種類の誤回答(抗体名と販売メーカーが一致していないことから分かります)が目立ちます。自施設で使用されている試薬の特徴を捉えるために、今一度、試薬添付文書を読むことをお勧めします。H12 年度からの精度管理調査以降に検査業務での改善項目が「ある」と、約 6 割の施設から回答が得られ、精度管理調査が日常業務に役立てて頂いていることを実感しました。

検体サーベイにおいては、S・1 検体のような「m.f.」の反応は見逃してはならない重要な反応性です。いずれの方法においても、反応性の判定基準をしっかりと把握していないと誤判読、誤判定に繋がります。今回の結果から、検査方法によって見逃し率が非常に高い場合があり、検査方法の選択を再考する必要があると考えます。S・2 検体のようにオモテ・ウラ不一致を認めた場合、その原因を精査し判定する必要があります。不一致となった施設の中には、追加検査の未実施で不正解となった施設が見受けられ、未実施での判定は誤判定につながるため慎重な対応が望まれます。Rho(D)については、抗 D 試薬対照未使用では、異常反応に気づかない場合があると考えられるため、試薬対照も同時に検査することが望ましいと考えます。

不規則抗体検査については、今回の S・2 のような複数の抗体を同定する場合、消去法、抗体の性質等を単独抗体同定時より、充分理解する必要があります。

試験管法の検体量については、滴下量の不足している施設が 5 割を超える状況のため、速やかな対応が望まれます。

## F. まとめ

H12、13 年度に引き続き結果を導き出す過程を重視、そのため判定に適切な追加検査が未実施での回答については不正解としました。今年度もまた、不規則抗体検査ではアンチグラムを回収し輸血検査研究班班員で判読を行い、輸血班コメントとし報告しました。輸血検査では、異常反応を認めた場合、様々な原因を想定し、ワンステップ毎に精査を実施する必要があります。その段階を経ないと誤判定につながります。今回の精度管理調査から、日常検査、次回の精度管理調査の参考となれば幸いです。

### <謝辞>

H14 年度の愛知県臨床検査精度管理調査輸血検査部門を実施するにあたって、愛知県赤十字血液センター、愛知県臨床検査技師会輸血検査研究班精度管理実務委員および班員の関係各位に感謝いたします。

—参考資料—

<血清学的検査結果>

表 a ◆S-1 オモテ試験：試験管法

試薬	抗体	直後	15分後	対照
抗 A	w 社動免	1+ <sup>s</sup> m f	2+ m f	4+
	0 社モノク	2+ m f	2+ <sup>s</sup> m f	4+
	w 社モノク	2+ <sup>s</sup> m f	2+ <sup>s</sup> m f	4+
抗 B	w 社動免	0	0	4+
	0 社モノク	0	0	4+
	w 社モノク	0	0	4+
抗 A <sub>1</sub>	0 社	0	0	4+
	自家製	0	0	4+
抗 H	モノク	2+ <sup>s</sup>	2+ <sup>s</sup>	2+ <sup>s</sup>
	自家製	4+	4+	4+
抗 A+B	モノク	2+ <sup>s</sup>	2+ <sup>s</sup>	4+
O 型血清 (30 本)		30/30	2+~w+	

表 b ◆S-1 ウラ試験：試験管法

血球	RT	5°C	37°C
A <sub>1</sub>	0	0	0
A <sub>2</sub>	0	0	0
B	2+ <sup>s</sup>	3+	2+ <sup>s</sup>
0	0	0	0

表 c ◆S-1 不規則抗体

不規則抗体	無
-------	---

表 d ◆S-1 抗 A 被凝集価 (動免)

	被凝集価	被凝集価 : Bro 加
S-1	1:8 (m. f. 有)	1:64 (m. f. 有)
対照	1:128	1:512

表 e ◆S-1 A 型物質

	型物質
生食	1:64
対照	1:16
S-1	1:32

表 f ◆S-1 A 転移酵素活性 (動免)

	酵素活性	酵素活性 : Bro 加
S-1	1:32	1:128
対照	1:64	1:256

<フローサイトメトリ解析>

<献血者からの ABO 亜型検出数>

図 a

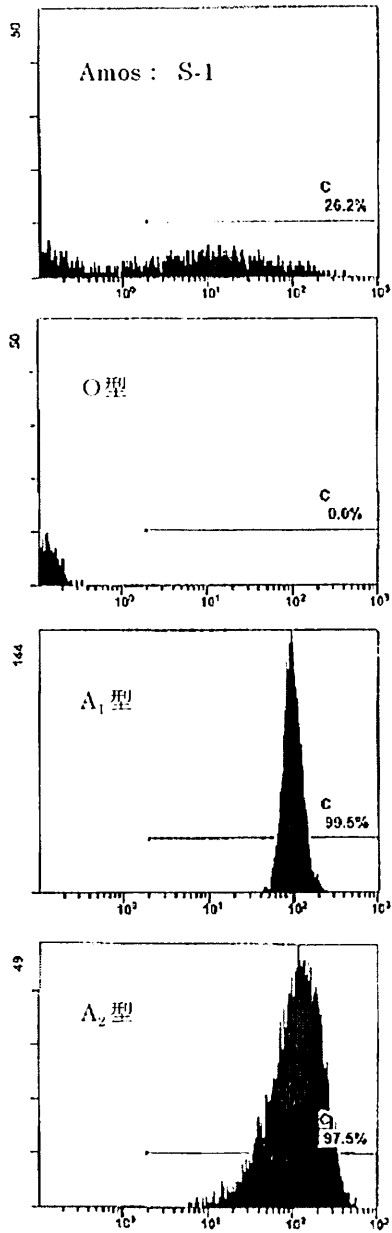


表 g

亜型名	検出数
A <sub>2</sub>	10
A <sub>3</sub>	1
A <sub>mos</sub>	40
A <sub>2</sub> B	19
A <sub>3</sub> B	7
A <sub>x</sub> B	2
A <sub>mos</sub> B	71
B <sub>3</sub>	1
B <sub>m</sub>	34
B <sub>mos</sub>	5
AB <sub>3</sub>	6
AB <sub>x</sub>	2
AB <sub>m</sub>	18
AB <sub>mos</sub>	57
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	1
A <sub>h</sub>	2
AB <sub>h</sub>	1
A, Oキメラ	5
計	282

愛知県赤十字血液センター

1995年10月から1996年9月

(検査と技術 vol.25 No.7 1997年増刊号より)

図 b <試験管法におけるオテ・ウ不一致の対応例>

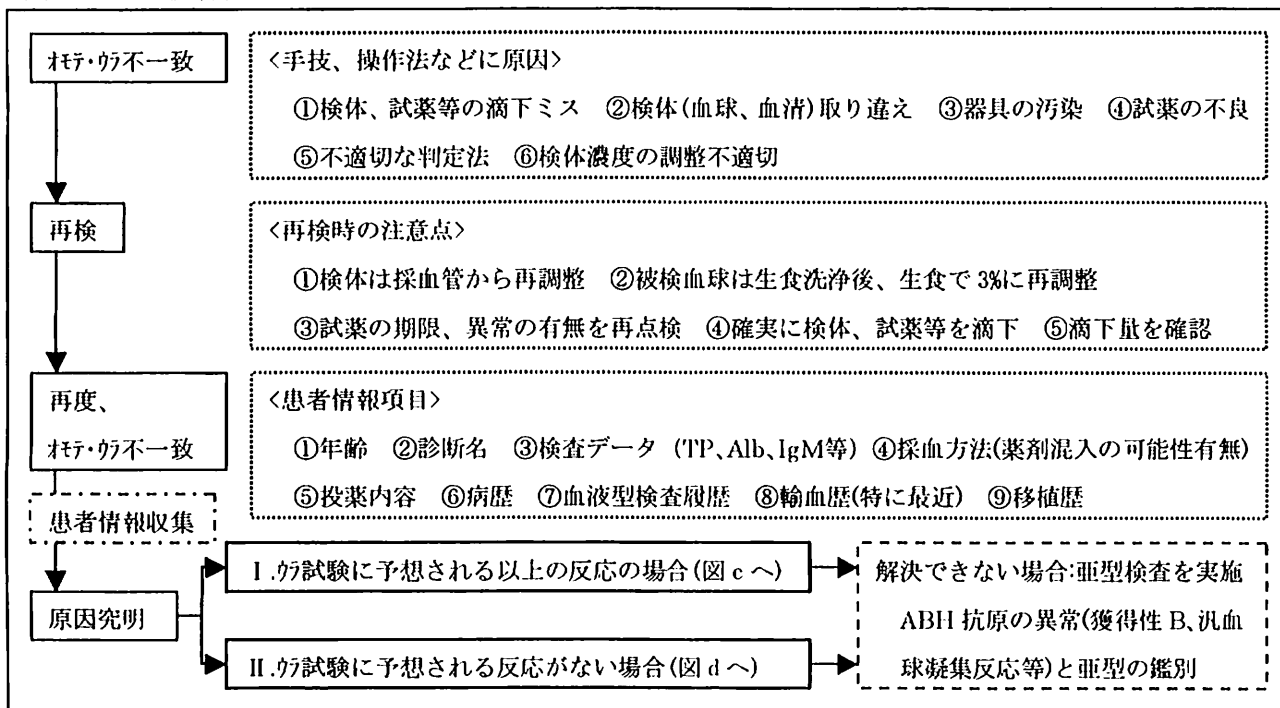


図 c < I. ウ試験に予想される以上の反応の場合 >

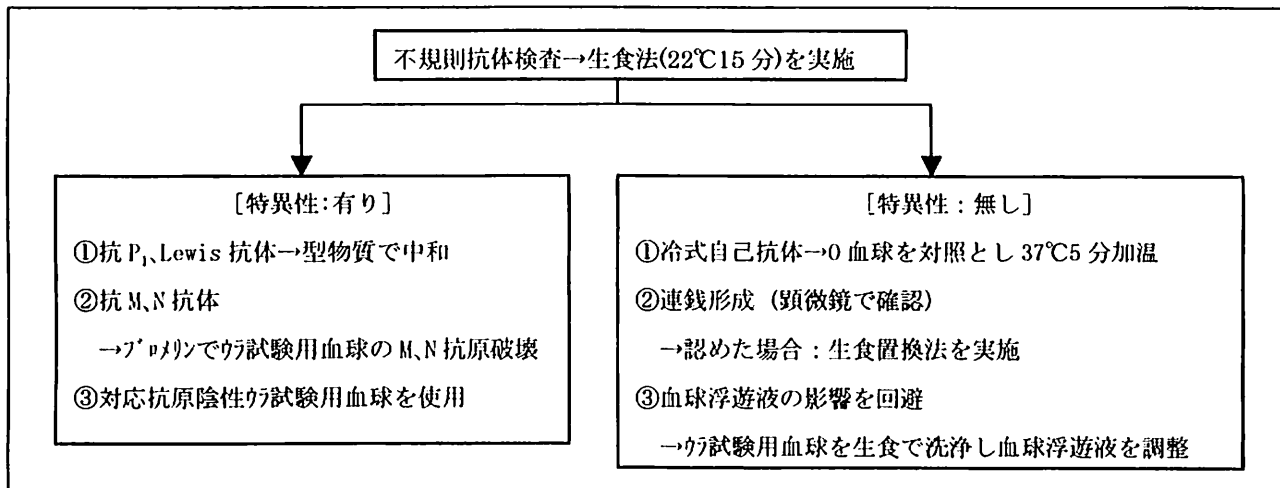


図 d < II. ウ試験に予想される反応がない場合 >

