

輸 血 部 門

精度管理事業委員

谷川 美佳子

愛知県赤十字血液センター

TEL 0561-85-4291

実務委員

丹羽 玲子	愛知医科大学附属病院
星野 鈺二	岡崎市民病院
加藤 俊樹	東海市民病院

輸血検査の精度管理調査

【はじめに】

平成 16 年度の精度管理調査事業として、検体サーベイとアンケート調査を実施した。

検体サーベイは、昨年と同様に、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、抗体同定検査を対象として調査を行い、試料 2 検体(S-1、S-2)を参加施設へ配布した。試料は実際の検査室で重要と思われる内容を想定し作製した。

アンケート調査は、患者検体および赤血球製剤のセグメントの取扱方法、また試験管法における凝集の観察方法等について実施した。

【参加施設】

検体サーベイの ABO 血液型・Rh₀(D) 血液型には 86 施設、不規則抗体検査には 74 施設、アンケート調査には 77 施設(うち 2 施設は認定輸血検査技師数のみ回答)が参加した。

検体サーベイ

【検査方法と使用試薬】

1. 血液型

ABO 血液型の検査方法と試薬由来の回答数を表 1 に示す。

表 1 ABO血液型の検査方法と試薬由来

オモテ検査方法と抗 A(B)血清試薬一覧					ウラ検査方法と血球試薬一覧		
検査方法	回答数	%	試薬由来	回答数	検査方法	回答数	%
試験管法	57	66.3	モノクローナル抗体	54	試験管法	64	74.4
			動物免疫抗体	3			
スライドグラス法	2	2.3	モノクローナル抗体	2	スライドグラス法	1	1.2
スライドペーパー法	5	5.8	モノクローナル抗体	5	スライドペーパー法	0	
ホールグラス法	1	1.2	モノクローナル抗体	1	ホールグラス法	0	
カラム凝集法	21	24.4	モノクローナル抗体	19	カラム凝集法	21	24.4
			ヒト由来抗体	2			
合計	86	100	合計	86	合計	86	100
メーカー名回答一覧(()内回答数) 抗 A(B)血清:オーソ(37)カイノス(12)三光(3)和光(18)シスメックス(9)オリンパス(6)無回答(1) 血球試薬:オーソ(57)カイノス(13)三光(0)和光(6)シスメックス(2)オリンパス(7)無回答(1)							

ABO オモチ検査の検査方法は、試験管法が 57 施設(66.3%)と一番多く、次にカラム凝集法 21 施設(24.4%)であった。その他にスライドペーパー法が 5 施設で実施されていた。使用試薬由来は、モノクローナル抗体が全体の 94.1%を占めていた。ウラ検査の検査方法は試験管法 64 施設(74%)、カラム凝集法 21 施設(24%)、その他にスライドグラス法が 1 施設で実施されていた。また、すべての参加施設が市販血球を使用していた。

Rh₀(D)血液型の検査方法と抗 D 血清試薬由来及び抗 D 試薬対照(Rh コントロール)の回答数を表 2 に示す。

表2 Rh₀(D)血液型の検査方法と抗 D 血清試薬由来及び抗 D 対照試薬

検査方法	回答数	%	試薬由来	回答数	抗 D 対照試薬	回答数
試験管法	61	70.9	ヒト由来抗体	9	対照専用試薬	31
			モノクローナル抗体	32	1%アルブミン	4
			ヒトモノクロブレンド抗体	20	7%アルブミン	3
					22%アルブミン	8
		未実施		15		
スライドグラス法	2	2.3	モノクローナル抗体	2	未実施	2
スライドペーパー法	2	2.3	ヒトモノクロブレンド抗体	2	未実施	2
カラム凝集法	21	24.4	ヒト由来抗体	3	対照専用試薬	16
			モノクローナル抗体	15	4%アルブミン	1
			ヒトモノクロブレンド抗体	3	7%アルブミン	1
					未実施	2
		無回答		1		
合計	86	100	合計	86	合計	86
メーカー名回答一覧(()内回答数)						
抗D血清:オーソ(44)カイノス(5)三光(11)和光(15)シスメックス(4)オリンパス(6)無回答(1)						

検査方法は、試験管法 61 施設(70.9%)、カラム凝集法 21 施設(24.4%)、スライドグラス法 2 施設(2.3%)、スライドペーパー法 2 施設(2.3%)であった。抗 D 血清試薬由来を検査方法に関係なく比較すると、モノクローナル抗体 49 施設(57.0%)、ヒトモノクロブレンド抗体 25 施設(29.0%)、ヒト由来抗体 12 施設(14.0%)であった。抗 D 対照試薬(Rh コントロール)は、対照専用試薬が 47 施設(54.7%)と最も多かった。

2.不規則抗体

不規則抗体スクリーニングは 74 施設が参加し、その検査方法は試験管法 47 施設(63.5%)、カラム凝集法 27 施設(36.5%)であった。

検査方法の実施数と使用試薬、反応温度、反応時間を表 3 に示す。

表3 検査方法の実施数と使用試薬、反応温度、反応時間

生食法 (実施 49 施設・未実施 25 施設)		
検査方法	反応温度	反応時間
試験管法(44)	室温	直後(22), 5分(3), 10分(2), 15分(10)
	15°C	15分(1)
	22°C	15分(1)
	25°C	直後(2), 5分(2)
	37°C	15分(2)
カラム凝集法(4)	4°C	15分(1)
	室温	直後(3)

酵素法(実施 64 施設・未実施 10 施設)			
検査方法	反応温度	反応時間	使用酵素
試験管法(40)	37°C	15分(40)	ブロメリン (39)
			フィシン (1)
カラム凝集法(24)	37°C	15分(24)	ブロメリン (10)
			フィシン (10)
			パパイン (4)

間接抗グロブリン法(実施 74 施設・未実施 0 施設)					
検査方法	反応増強剤	反応温度・反応時間		クームス試薬	
試験管法(47)	22%アルブミン (4)	37°C	15分(3), 30分(1)		多特異 (4)
	30%アルブミン (1)	37°C	30分(1)		多特異 (1)
	重合アルブミン (12)	室温	直後(1)		多特異 (12)
		25°C	直後(1)		
	PEG (28)	37°C	15分(8), 20分(1), 30分(1)		多特異 (11)
		30°C	15分(1)	抗IgG (17)	
	LISS (1)	37°C	10分(12)15分(14)20分(1)		多特異 (1)
未回答 (1)				多特異 (1)	
カラム凝集法(27)	22%アルブミン (1)	37°C	15分(1)		多特異 (1)
	LISS (25)	37°C	15分(24)30分(1)		多特異 (10)
			抗IgG (14)		
未回答 (1)	37°C	15分(1)		未回答 (1)	

<メーカー名回答一覧>

酵素試薬: オーツ(13)カイノス(15)三光(0)和光(19)シスメックス(9)オリンパス(7)無回答(1)

反応増強剤: オーツ(26)カイノス(22)三光(3)和光(8)シスメックス(3)オリンパス(9)無回答(3)

抗ヒトグロブリン試薬: オーツ(32)カイノス(19)三光(2)和光(5)シスメックス(2)オリンパス(9)無回答(3)

注:()内は回答数

試験管法実施 47 施設のうち、方法毎の実施率は、生食法 44 施設 (93.6%)、酵素法 40 施設 (85.1%)、間接抗グロブリン法 47 施設 (100%)、カラム凝集法実施 27 施設のうち、生食法 4 施設 (14.9%)、酵素法 24 施設 (88.9%)、間接抗グロブリン法 27 施設 (100%)であった。試験管法での生食法の実施率は高く、酵素法は試験管法、カラム凝集法共に約 80%、間接抗グロブリン法は全施設で実施されていた。

生食法の反応温度、反応時間は試験管法、カラム凝集法共に、室温、直後遠心が 25 施設 (33.8%) と最も多かった。酵素法の反応温度、反応時間は全施設 37°C 15 分であり、使用酵素はブロメリンが全体の 75% を占めていた。方法毎で比較すると、試験管法ではブロメリンが 38 施設 (95%) を占め、カラム凝集法ではブロメリン 10 施設 (41.7%)、フィシン 10 施設 (41.7%)、パパイン 4 施設 (16.7%) であった。間接抗グロブリン法で使用する反応増強剤は、試験管法ではポリエチレングリコールが 28 施設 (59.6%)、カラム凝集法では低イオン強度溶液 (LISS) 25 施設 (92.6%) が多かった。抗ヒトグロブリン試薬 (クームス試薬) の抗 IgG はカラム凝集法 (14 施設) と反応増強剤にポリエチレングリコールを用いた試験管法 (17 施設) に多く使用されており、それ以外の場合に多特異が使用されていた。

【正解基準と解説】

1. S-1

正解基準

ABO: O 型

Rh₀(D): 直後遠心において抗 D との反応に m.f. を認め、判定保留と回答されていれば正解。m.f. が確認されていても Rh₀(D) 陽性と判定されていると不正解。

不規則抗体スクリーニング: 生食法、酵素法、間接抗グロブリン法の全てが陰性であれば正解。

解説

D 陰性血球と D 陽性血球が混在していて、部分凝集 (m.f.) が認められる検体である。部分凝集が認められる原因として異型輸血、異型 (Rh₀(D)) の移植後経過中、キメラ等が考えられる。部分凝集は凝集と非凝集血球 (背景に濁り) が見られる状態である。日常検査では、このような場合は判定保留とし、部分凝集の原因を確認することが重要であり、このため先ず最新の輸血歴や、疾患名、年齢、家系調査など患者情報を得る必要がある。今回、部分凝集が確認できなかった施設は、自施設で D 陰性血球と D 陽性血球を混合し、反応態度を確認することをお勧めする。今回の様な反応像では、凝集のみに目を奪われず、背景の透明度、凝集の強さも観察することが大切である。

2. S-2

正解基準

ABO: A 型もしくは A₁ 型。判定保留は許容正解。

Rh₀(D): 陽性。

不規則抗体スクリーニング: 生食法陰性、酵素法、間接抗グロブリン法が陽性を正解。(不規則抗体陽性を正解)

不規則抗体同定:抗 E、抗 Fy^b抗体が正解。抗体名については、陽性血球を所持していない場合など否定できないとコメントがあれば正解。臨床的意義の順としては、どちらでも可。結果が記入されたパネル用紙(スクリーニング血球も含め)が未提出の場合、回答が正しくても正解とはならない。

解説

不規則抗体検査で生食法は陰性、酵素法及び間接抗グロブリン法は陽性となり、抗 Fy^b、抗 E 抗体が存在する検体である。今回の様に、抗体同定検査で陰性となるパネル血球の数が少なく、ある種類の抗原陽性血球との反応が陽性となった場合は、その抗体だけと決めつけず、その血球の他の抗原に対する不規則抗体が共存する可能性も考慮して判定する必要がある。また、抗体の存在が肯定あるいは否定できない場合は、コメントとして残しておくことが大切である。この検体の場合は、パネル血球の酵素処理(2 段法)を行うと、Fy^b 抗原が消失するため、他の抗体の存在がわかり易くなる。

【調査結果】

1.ABO 血液型

S-1、S-2 の ABO 血液型の各試薬との反応態度及び判定結果の回答数を表4に示す。

表4 S-1、S-2 の ABO 血液型の各試薬との反応態度及び判定結果の回答数

S-1						S-2					
凝集強さ	オモテ検査		ウラ検査			凝集強さ	オモテ検査		ウラ検査		
	抗A	抗B	A ₁ 血球	B血球	O血球		抗A	抗B	A ₁ 血球	B血球	O血球
4+	0	0	80	72	1	4+	83	0	0	14	0
3+	0	0	3	11	1	3+	2	0	0	31	0
2+	0	0	3	3	0	2+	1	0	1	31	0
1+	0	0	0	0	0	1+	0	0	1	7	0
w+	0	0	0	0	0	w+	0	0	0	3	0
0	86	86	0	0	31	0	0	0	0	0	33
未実施	0	0	0	0	53	未実施	0	0	0	0	53
合計	86					合計	86				
判定	内訳					判定	内訳				
オモテ判定	O型(86)					オモテ判定	A型(86)				
ウラ判定	O型(86)					ウラ判定	A型(72)、判定保留(14)				
総合判定	O型(84)、判定保留(1)※					総合判定	A型(76)、A ₁ 型(4)、判定保留(5)※				

注:()内は回答数

※内 1 施設、総合判定を無回答

S-1 のオモテ検査では、抗 A 及び抗 B との反応性を「0」と全施設が回答していた。ウラ検査では、2 施設が O 血球に凝集を認めているにもかかわらず、ウラ検査において「O 型」と回答されていた。その他には、オモテ検査「O 型」ウラ検査「O 型」と判定されているにもかかわらず、総合判定を「判定保留」と回答した施設が 1 施設あった。

S-2 のオモテ検査では、83 施設が反応性を「4+」と回答、「3+」「2+」と回答した 3 施設はスライド法による結果であった。ウラ検査では、A₁ 血球との反応性を 1 施設が「2+」、1 施設が「1+」と回答し

ていた。しかし、その内 1 施設は総合判定で判定保留と回答、他の 1 施設は、追加検査を実施、A₁ 血球との反応性を陰性と確認後「A 型」と判定していた。B 血球との反応性は、「4+」から「2+」までの強さの回答が多かったが、10 施設(11.6%)が「1+」「w+」と弱い反応性の回答であった。「1+」「w+」の回答施設のうち、S-1においてもウラ検査で「2+」と、2 検体共に弱い反応性と回答している施設があった。

ウラ検査において、A₁ 血球の異常反応、B 血球との反応が弱い等で追加検査を実施している施設があった。また、その追加検査時に対照を使用していない施設があった。

2. Rh₀(D)血液型

S-1 の回答を m.f.の回答の有無に分けて、検査方法、直後遠心の凝集の強さ、判定結果の回答数を表 5 に示す。

表5 S-1 m.f.の回答の有無に分けた検査方法、直後遠心の凝集の強さと判定結果の回答数

m.f.回答	検査方法	回答数	凝集の強さ(回答数)	判定	回答数
有 34(39.5%)	試験管法	21	4+m.f.(5) w+m.f.(1)	Rh ₀ (D)陽性	1
			3+m.f.(7) m.f.のみ(1)	判定保留	32
	カラム凝集法	13	2+m.f.(11) 4+と0(1)	陰性の扱い	0
			1+m.f.(7)	weakD	1
無 52(60.5%)	試験管法	40	4+(7) 0 (1)	Rh ₀ (D)陽性	40
	スライドペーパー法	2	3+(13) 無回答(1)	判定保留	8
	スライドグラス法	2	2+(24)	陰性の扱い	2
	カラム凝集法	8	1+(6)	weakD	2
合計		86			

m.f.回答「有」が 34 施設(39.5%)あり、Rh₀(D)判定保留と回答した施設は 32 施設(37.2%)であった。その他には、weakD が 1 施設(1.2%)、Rh₀(D)陽性が 1 施設(1.2%)あった。m.f.回答「無」は 52 施設(60.5%)あり、半数以上を占めた。その回答の内訳は Rh₀(D)陽性が 39 施設(46.5%)、判定保留が 8 施設(9.3%)、weakD が 2 施設(2.3%)、D 陰性扱いが 2 施設(2.3%)であった。検査方法別に見ると、試験管法で m.f.回答「有」が 21 施設(34.4%)、「無」が 40 施設(65.6%)、カラム凝集法では、「有」が 13 施設(62.0%)、「無」が 8 施設(38.0%)、スライドグラス法、スライドペーパー法では、「有」の回答が皆無であった。試験管法とカラム凝集法で比較すると、カラム凝集法の方が、「有」の回答率が高かった。D 陰性確認試験を 26 施設が実施し、反応性「0」と 3 施設が回答した。そのうち 2 施設は直後判定を「+」と回答、1 施設は直後判定を「0」と回答していた。抗 D 試薬対照(Rh コントロール)は D 陰性確認試験ではすべての施設が実施していた。

S-2 では、全施設が Rh₀(D)陽性と回答していた。但し、抗 D 試薬対照(Rh コントロール)との反応で「H」と回答、D 陰性確認試験を「0」直後判定を「4+」との回答が各 1 施設あった。

3.不規則抗体検査

S-1、S-2 の不規則抗体スクリーニング検査結果の回答数を表 6 に示す。

表6 S-1、S-2 の不規則抗体スクリーニング検査結果の回答数

S-1			S-2				
回答	生食法	酵素法	IAT 法	回答	生食法	酵素法	IAT 法
陰性	46	59	71	陰性	45	12	1
陽性	0	1	1	陽性	2	51	72
未実施	27	13	1	未実施	26	10	0
無回答※	1	1	1	無回答※	1	1	1
合計	74			合計	74		

※不規則抗体実施、反応条件など回答はあったが、結果無回答が 1 施設。

S-1 は不規則抗体陰性検体であるが、酵素法、間接抗グロブリン法「陽性」が 1 施設あった。S-2 は生食法陰性検体であるが、2 施設が生食法「陽性」と回答があった。また酵素法陽性検体であるが、酵素法「陰性」が 12 施設あった。酵素試薬は全てプロメリンを使用し、検査方法は試験管法 7 施設、カラム凝集法 5 施設あった。また間接抗グロブリン法 (IAT 法) 陽性検体であるが、IAT 法「陰性」が 1 施設あったが、提出されたパネル表では「陽性」であった。

S-2 の不規則抗体同定検査の抗体回答一覧を表 7 に示す。

表7 抗体回答一覧

抗体名	回答数
抗E、抗 Fy ^b 、	29
抗E、抗 Fy ^b 、抗 Di ^a	9
抗c、抗 Fy ^b 、抗Jk ^b	2
抗E、抗 Fy ^b 、抗 Le ^a	1
抗E、抗 Fy ^b 、抗 Di ^a 、抗 K、抗k、抗Cw	1
抗E、抗 Fy ^b 、抗 Di ^a 、抗 K	1
抗c	1
抗Jk ^b 、抗 Fy ^b	1
抗 Fy ^b	1
合計	46

抗E、抗 Fy^b (臨床的意義の順はどちらでも可) が正解であり、正解は 29 施設 (63.0%) であった。但し、29 施設のうちパネル結果が記入されたパネル表が提出され、その内容および抗体が正しく同定されていたのは 23 施設 (50.0%) であった。

結果が記入されたパネル表から、回答された抗体名が正しくても、血球に抗原の重なり、E または Fy^b 陽性血球に Le^a、Di^a、M (ホモ)、Jk^b (ホモ) 抗原なども存在し、重なった抗原に対する抗体の否定がされていなかった施設があった。誤った回答では、E または Fy^b 陽性血球とのみ反応しているにもかかわらず、Le^a、Di^a、Jk^b、K 抗原が存在したため、抗 Le^a 抗体、抗 Di^a 抗体、抗 Jk^b 抗体、抗 K 抗体などの回答があった。抗 Fy^b 抗体のみの回答では、酵素法陰性、間接抗グロブリン法血球に Fy^b と E 抗原が共存し、酵素法陰性であったため抗 E 抗体の存在を見落とされていた等が判読できた。

【解析】

血液型の検査方法については昨年度のサーベイと比較すると、昨年度が試験管法 63%、カラム凝集法 23%であり、ほぼ同じ割合であった。問題点としては、ABO オモテ検査でスライドペーパー法、ウラ検査でスライドグラス法、Rh₀(D)血液型検査でスライド法を回答している施設があった。輸血検査の標準法とされる「輸血検査の実際」には ABO ウラ検査、Rh₀(D)検査には試験管法のみが記載されている。また ABO オモテ検査ではスライド法は記載されているが、試薬の添付文書には載せガラス法とあり、ペーパー法は推奨されていない。該当施設は検査方法を見直してもらいたい。

Rh₀(D)使用試薬については、毎年見受けられるが、今年度も使用試薬由来の回答に誤りがあった。例を挙げると、カラム凝集法の抗 D 血清にはヒモノクロブレンド抗体は販売されていない、またカラム凝集法は予めカラムに抗 D 試薬対照が充填されているため専用試薬である。しかしそれらとは異なる回答がされていた。日常検査を行う際に、添付文書を熟読し、試薬の特徴を理解した上で使用することは大切である。

不規則抗体の検査方法は、昨年度は、試験管法 63.6%、カラム凝集法 36.4%で、今年度とほぼ同じ割合であった。

検体の調査結果では、ABO オモテ検査は特に問題はなかったが、ABO ウラ検査で S-1 の A 及び B 血球での反応が「2+」以下、S-2 の B 血球での反応が「1+」以下と 2 検体共、弱い凝集の回答であった施設が見受けられた。それらの施設は、血清の滴下量、遠心機の遠心状態、凝集反応の見方など自施設の検査の手技や機器等について、検討を勧める。また、S-2 においてウラ検査で反応性が弱いため判定保留と回答された施設は 14 施設あったが、それ以上に反応性が弱い凝集態度でありながら、追加検査を実施せず、血液型を判定している施設があった。

その他には、ABO の追加検査で、対照を使用していない施設が毎回見受けられる。対照をおく必要性の例として、A 型で B 血球との反応が弱く 15 分放置後、反応の増強を確認する追加検査を行う場合は、O 型血球を対照とすれば、B 血球との反応が増強されたように見えても、O 血球に反応が認められれば、実は冷式抗体が存在したことによる増強であり、正しく追加検査ができていないことがわかる。そのため O 血球を対照とし、反応が陰性であることを確認した上で、増強されたのは抗 B 抗体であると証明する。

Rh₀(D)血液型については、昨年度のサーベイでは D 陰性確認試験において、抗 D 対照試薬を使用していない施設があったが、今年度は全施設で実施されていた。S-1 の抗 D 血清との反応で m.f. (部分凝集)の回答は半数以下の約 4 割であった。m.f.が確認できなかった施設は、検体の解説でも述べたが、トレーニングとして ABO 同型の Rh₀(D)陽性と Rh₀(D)陰性の洗浄した血球沈渣を半々ぐらいに混合した試料を作製し、反応性の確認を勧める。試験管法での凝集部分の強さの結果にはばつきが認められたが、試薬の由来の違いなどが原因として考えられる。はっきりしない場合は、混合比率にもよるが再遠心を行うと凝集塊が大きくなり、非凝集部分が判り易くやすくなる場合がある。自施設でトレーニングを行い、m.f.と弱い凝集像との鑑別を確実に実施していただきたい。

weakD は、m.f.の反応性ではなく、試験管法の直後判定で陰性もしくは「w+」と、ごく弱く反応し、D 陰性確認試験で反応性が強くなることが知られている。partialD の鑑別には、数種の抗 D 血清(ポ

リクローナル抗体、モノクローナル抗体)がないと確定はできない。このような場合で、輸血を必要としている患者では、先ず必要なことは血液型を確定することではなく、輸血用血液を選択することであると考える。輸血前の患者血液を確保しておき、輸血は「D 陰性扱い」で対応し、血液型を確定する必要があるれば、後日専門の機関へ精査をしていただくとよい。

不規則抗体検査については、S-2 でプロメリン法を実施した 63 施設のうち約 20%の 12 施設が陰性との回答であった。プロメリンおよびパネル血球のメーカーなどに偏りがないか確認したが、特に傾向は認められなかった。今回陰性であった施設は、プロメリン試薬の力価、検査手技、試料や試薬の滴下量など今一度検証することを勧めたい。

最後に、今年度試薬由来や反応条件等の回答、結果の回答に入力ミスと考えられるケースが数箇所に見受けられた。正しく結果を出しても、入力ミスは、結果的には誤判定と同じであることを認識し、入力には慎重に行っていただきたい。

【まとめ】

日常検査において ABO 血液型、Rh₀(D)血液型で抗血清との反応態度が異常であった場合は、亜型、変異型と決め付けず、患者情報を収集し原因等を確認していただきたい。不規則抗体検査においては、結果を導き出す過程が重要で、慎重に抗体を同定していただきたい。

今後も輸血検査において基本事項あるいは重要と考えられる項目については、繰り返し検体サーベイを実施していきたい。

検体サーベイ担当 愛知県赤十字血液センター谷川美佳子

アンケート調査

【集計結果】

I 認定制度の取得状況について

1. 認定輸血検査技師を取得している技師数(表 1)

認定輸血検査技師数	回答数(%)
いない	49(63.6)
1名	17(22.1)
2名	8(10.4)
4名	2(2.6)
3名	1(1.3)
合計	77

認定輸血検査技師がいないが49施設(63.6%)、1名以上いるが28施設(36.4%)であった。前年のアンケート時より1名減少している。

II 不規則抗体検査、交差適合試験に使用する患者検体について

2. 患者検体の種類について(表 2)

検体種類	回答数(%)
凝固血液	57(76.0)
EDTA血漿	17(22.7)
両方	1(1.3)
合計	75

凝固血液(血清)を使用しているが57施設(76%)、EDTA血(血漿)を使用しているが17施設(22.7%)、両方使用しているが1施設(1.3%)であった。EDTA血(血漿)を使用している17施設は2施設を除きカラム凝集法を実施していた。またカラム凝集法を血清で実施しているのは12施設であった。

3. 患者検体の保存方法について(表 3)

検体保存方法	回答数(%)
保存しない	37(49.3)
分離後、血球、血清ともに冷蔵	25(33.3)
全血、室温保存	6(8.0)
全血、冷蔵保存	5(6.7)
分離後そのまま冷蔵	2(2.7)
合計	75

採血当日に検査をするため患者検体の保存を行わない(遠心分離後室温放置を含む)が37施設(49.3%)であった。また遠心分離後別々に冷蔵保存が25施設(33.3%)、遠心分離後そのまま冷蔵保存が2施設(2.7%)であった。全血で保存していると答えた11施設の内6施設がそのまま全血にて1日~3日間の保存を実施していた。

4. 患者検体の保存期間について(表 4)

検体保存期間	回答数(%)
保存しない	44(58.7)
3日	12(16.0)
1日	8(10.7)
2日	5(6.7)
当日だが3日間の場合もあり	2(2.7)
その他(無記入)	2(2.7)
4～6日	2(2.7)
合計	75

患者検体を保存しないが 44 施設(58.7%)で保存方法の回答と数値が一致しなかった。1 日～3 日間の保存が 27 施設(36.0%)、また 4～6 日間保存が 2 施設(2.7%)であった。

Ⅲ輸血後の副作用に備えての患者検体の保存について

5. 副作用時に備えた患者検体の保存について(表 5)

副作用に備えた検体保存	回答数(%)
1ヶ月程度	15(20.0)
半年程度	14(18.7)
1年以上	13(17.3)
2週間程度	11(14.7)
3ヶ月程度	10(13.3)
1週間程度	6(8.0)
10日程度	3(4.0)
保存していない	1(1.3)
1～3日	1(1.3)
無回答	1(1.3)
合計	75

1 週間以上検体を保存しているが 72 施設(96%)と大多数であった。1 日～3 日間保存が 1 施設(1.3%)、保存していない施設が1施設(1.3%)であった。

6. 保管検体の種類について(表 6)

保管検体種類	回答数(%)
検査残余血清	56(74.7)
検査残余血漿	17(22.7)
無回答	2(2.7)
合計	75

保管検体の種類については検査残余血清が 56 施設(74.7%)、検査残余血漿が 17 施設(22.7%)で使用患者検体の種類とほぼ同数であった。

Ⅳ交差試験用の検体と血液型検査の検体は別々に採血されたもので実施しているか

7. 交差適合試験用の患者検体について(表 7)

交差患者検体	回答数(%)
別採血	38(50.7)
別採血が原則	31(41.3)
同時採血	3(4.0)
わからない	2(2.7)
無回答	1(1.3)
合計	75

血液型とは別に採血されたもので検査が38施設(50.7%)、同時採血が3施設(4.0%)、原則は別採血だが条件によっては同一検体にて実施が31施設(41.3%)であった。

条件の内訳を下表に示す。

緊急時で採血が困難な時	10施設
確実に本人と確認できている場合	2施設
事前に血液型を確定している時	1施設
同時に依頼された場合	1施設
無記入	17施設

8. 交差試験用検体の血液型再検査について(表8)

血液型再検査	回答数(%)
オモテ・ウラ・Rh ₀ (D)	22(29.3)
オモテとRh ₀ (D)	17(22.7)
オモテのみ	15(20.0)
実施していない	14(18.7)
オモテとウラ	5(6.7)
ウラのみ	1(1.3)
副試験のみ	1(1.3)
合計	75

オモテ・ウラ・Rh₀(D)を実施しているとオモテ・Rh₀(D)を実施しているが39施設(52%)、ABOは実施しているがRh₀(D)を実施していないが22施設(29.3%)、なにも実施していないが14施設(18.7%)であった。

V 赤血球製剤のセグメントについて

9. セグメントの保存期間について(表9)

セグメント保存期間	回答数(%)
保存していない	20(26.6)
1ヶ月程度	16(21.3)
3ヶ月程度	14(18.7)
半年程度	10(13.3)
1年以上	6(8.0)
2週間程度	4(5.3)
1週間程度	2(2.7)
無回答	2(2.7)
その他	1(1.3)
合計	75

1ヶ月～半年程度保存しているが40施設(53.3%)、1年以上保存が6施設(8.0%)、1～2週間保存が6施設(8.0%)、保存していないと回答したのが20施設(26.7%)であった。

10. セグメントの保存方法について(表 10)

セグメント保存方法	回答数(%)
そのまま冷蔵	44(83.0)
そのまま冷凍	3(5.7)
遠心分離して冷蔵	2(3.8)
そのまま室温	2(3.8)
一定期間冷蔵後冷凍	2(3.8)
合計	53

そのまま冷蔵が44施設(83%)で最も多かった。ほとんどが冷蔵で保存し、冷凍保存が5施設(9.4%)、室温保存が2施設(3.8%)であった。

11. セグメントのABOの確認について(表 11)

セグメントABO	回答数(%)
オモテのみ	24(32.0)
実施していない	22(29.3)
主試験の生食法	15(20.0)
主試験・副試験	8(10.7)
無回答	5(6.7)
その他	1(1.3)
合計	75

セグメントのABOを確認しているの施設は、オモテ検査のみが24施設(32.0%)、主試験の生食法が15施設(20.0%)、主試験・副試験両方が8施設(10.7%)で合計48施設(64.0%)あり、ABOの確認を実施していないが22施設(29.3%)であった。

12. セグメントのRh₀(D)の確認について(表 12)

セグメントRh	回答数(%)
検査していない	37(49.3)
患者がD(-)の時、検査実施	25(33.3)
検査実施	8(10.7)
無回答	5(6.7)
合計	75

Rh₀(D)の確認を実施していないが37施設(49.3%)、患者がD陰性の場合のみ検査実施が25施設(33.3%)、常にRh₀(D)を確認が8施設(10.7%)であった。

VI試験管法における反応の見方について

13. 判定遠心後の観察について(表 13)

直後の観察	回答数(%)
溶血の有無	57(76.0)
凝集の強さ	17(22.7)
無回答	1(1.3)
合計	75

判定遠心直後に溶血の有無を観察するとしたのが 57 施設(76.0%)、凝集の強さを観察するとしたのが 17 施設(22.7%)あった。

14. 凝集の確認方法について(表 14)

最初に行う操作	回答数(%)
まず試験管を傾ける	67(89.3)
まず試験管を振る	6(8.0)
その他	1(1.3)
無回答	1(1.3)
合計	75

まず試験管を傾けるとしたのが 67 施設(89.3%)、まず試験管を振るとしたのが 6 施設(8.0%)あった。

15. 背景の色調と部分凝集の有無について。(表 15)

部分凝集の有無の確認	回答数(%)
はい	72(96.0)
いいえ	2(2.7)
無回答	1(1.3)
合計	75

背景の色調と部分凝集の有無に注意しているとの回答が 72 施設(96%)とほとんどであったが、今回の検体サーベイで Rh₀(D)の部分凝集を見落としたのは 86 施設中 52 施設(60.5%)あった。

16. 凝集状態の記録について(表 16)

凝集記録	回答数(%)
すべて	24(32.0)
血液型、不規則抗体、交差試験	11(14.7)
血液型のみ	9(12.0)
血液型、不規則抗体	8(10.7)
不規則抗体、交差試験	6(8.0)
不規則抗体のみ	5(6.7)
その他	4(5.3)
無回答	4(5.3)
交差試験のみ	2(2.7)
血液型、交差試験	2(2.7)
合計	75

すべての輸血検査について記録をしているのが 24 施設(32.0%)であった。最低でも血液型の判定記録をしているのは 54 施設(72.0%)あった。その他として陽性時や特記事項がある時は記録する、抗体同定時は記録するとした施設があった。

VII 技術格差の是正について

17. トレーニングの体制について(表 17)

トレーニング	回答数(%)
いいえ	39(52.0)
はい	28(37.3)
その他	5(6.7)
無回答	3(4.0)
合計	75

トレーニングの体制があるが 28 施設(37.3%)、体制がないとの回答は 39 施設(52.0%)あった。

18. それほどどのような体制か(複数回答あり)(表 18)

研修形式	18施設
勉強会形式	6施設
マニュアルの整備と周知	5施設
業務のローテーション	1施設

【まとめ】

1. 検体の保存方法(表 3)は、遠心分離後別々の容器に移して冷蔵保存することが望ましい。全血のまま冷蔵保存すると抗I自己抗体が自己血球に吸着する際、低力価の不規則抗体を巻き込んで吸着する(松橋緒方現象)ため、不規則抗体が検出できなくなる場合がある。また赤血球には補体の試験管内感作が起きるため自己対照が偽陽性となる可能性が生じる。
2. 検体の保存期間(表 4)は、長期保管することにより補体活性が低下し補体依存性抗体の検出感度が悪くなる可能性がある。また最新の検体で検査を実施しないと、妊娠や輸血により生体内で抗体が産生されていることに気付かず、不適合輸血となる可能性がある。さらに遅発性溶血性副作用を起こすことがあるので注意が必要である。日本輸血学会の赤血球型検査ガイドラインでは、「輸血前検査に使用できる検体の保管期間は 4℃で保管した場合、採血から 1 週間を限度とする、但し輸血あるいは妊娠による免疫から抗体産生までの期間についてはまったく予測できず、このことを考慮に入れて不規則抗体検査や交差適合試験用の検体は採血されなければならない」としている。
3. 輸血後の副作用に備えての患者検体の保存について(表 5)(表 6)は、日本輸血学会の赤血球型検査ガイドラインにて、「検体の提出日から 10~14 日間は 4℃に保管しておくこと」となっている。また血漿では感染症等の測定ができない機器があるので自施設で検査を実施する際は注意が必要である。さらに厚生労働省の遡及調査の通達では、「受血者の輸血前血液の調査が必要になる場合があるので血清または血漿約 1ml を -20℃以下で当分の間可能な限り凍結保存しておくこと」となっている。後者の方が現状に即していると思われる。

4. 輸血実施時の患者血型(表 7)(表 8)は、検査ミスや検体取り違いまたは患者取り違いや血型の依頼間違い等の可能性を常に考慮して、血液型検査とは別に採血された交差適合試験用の検体にて再度血液型検査(オモテ・Rh₀(D))を実施する事が必要である。患者が D 陰性の場合、交差適合試験では D 陽性のドナー血は適合となり、ABO のマイナーミスマッチでも主試験のみでは適合となる。
5. 赤血球製剤のセグメントについて(表 9)(表 10)(表 11)(表 12)は保存を行わないと再検査に対応できない。また保存には製剤のロットシールを誤りなくセグメントに貼付することが必要となる。またセグメントの ABO は、オモテ検査か主試験の生食法にて確認し、さらに患者が D 陰性の場合の Rh₀(D) 確認は最低限必要と思われる。
6. 試験管法における反応の見方について(表 13)(表 14)(表 15)(表 16)は、先に凝集を見ようと試験管を傾けると溶血反応の確認ができないため、まず上清の色調を確認してから凝集の確認をする。また試験管を振ってしまうと弱い凝集反応を見落とす可能性が生じるので、試験管は緩やかに傾けて観察することが必要である。背景の色調と部分凝集の有無については 96%の施設が注意していると答えたが、このうち半数以上の施設が部分凝集を見落としていた。先入観に惑わされ見えなくなるという現象が起こりうる。また検査の記録を残すことは、異常反応における問題解決の手掛かりとなり、誤判定を防ぐことになる。
7. 技術格差の是正について(表 17)は、普段輸血検査に携わっていない技師が宿日直等で検査を実施している施設においては、なんらかの方法で技術を統一させることが大切である。(表 18)の実際の体制を参考にして頂きたい。

最後に溶血や部分凝集、弱い凝集など日頃あまり遭遇しないような検体でも確実に判定できる目を養って頂ける様に、また基本的事項の再確認に今回の精度管理調査が役に立てれば幸いである。

アンケート調査担当 東海市民病院 加藤俊樹

正誤表

輸血部門

(誤) 表 4 S-2 凝集の強さ 0 の回答数 抗B 0 A₁血球 0

(正) 表 4 S-2 凝集の強さ 0 の回答数 抗B 86 A₁血球 84