

香川県外部精度管理調査の結果解説と今後の評価方法について

香川県臨床検査技師会精度管理委員輸血部門
渡邊 良（香川労災病院）

配布資料及び調査項目

試料	内容	検査項目
3 1 血球	赤血球液	ABO表試験、RhD判定
3 1 血漿	血漿	ABO裏試験、不規則抗体検査
3 2 血球	赤血球液	ABO表試験、RhD判定
3 2 血漿	血漿	ABO裏試験、不規則抗体検査
3 3 血球	3 %赤血球浮遊液	直接抗グロブリン試験
3 4 血球	3 %赤血球浮遊液	直接抗グロブリン試験

評価方法

■ 血液型のみ参加の場合

試料 3 1 と 3 2 で、ABO判定とRhD判定各 2 問とし、合計 4 問中の正答率を得点とする。

カラム凝集法と試験管法いずれか、または両方の結果で評価する。

表検査のみの場合でも表検査の反応結果と総合判定を合わせて評価。

判定に記載のないものは不正解。

Rhコントロール未検査、クームスコントロール未検査の場合は評価対象外。

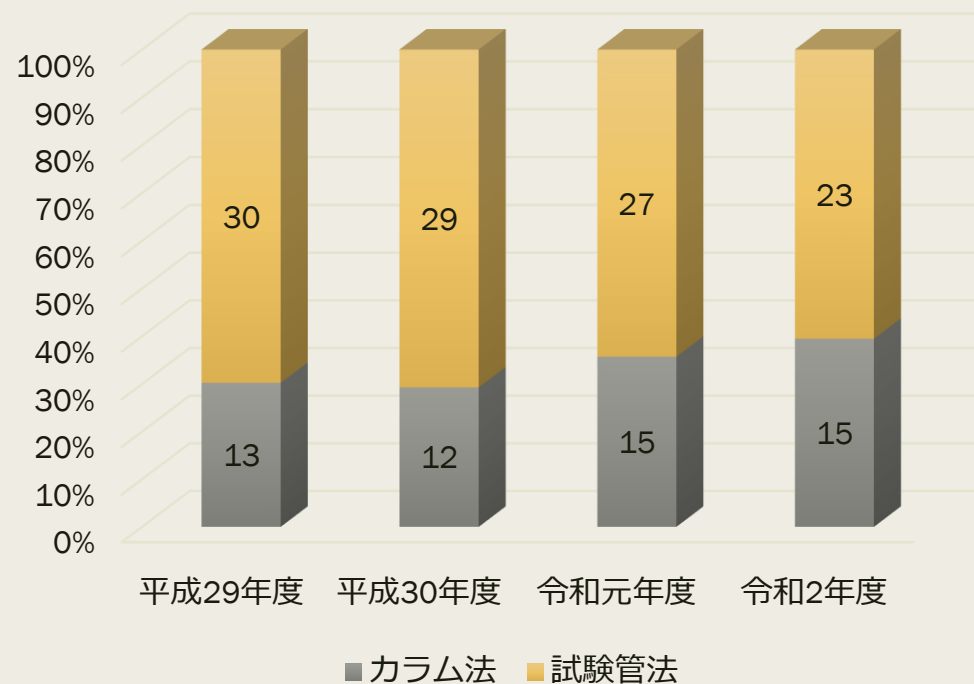
■ 血液型と不規則抗体に参加の場合

試料 3 1 と 3 2 でABO判定とRhD判定及び不規則抗体スクリーニング判定各 3 問、合計 6 問中の正答率を得点とする。

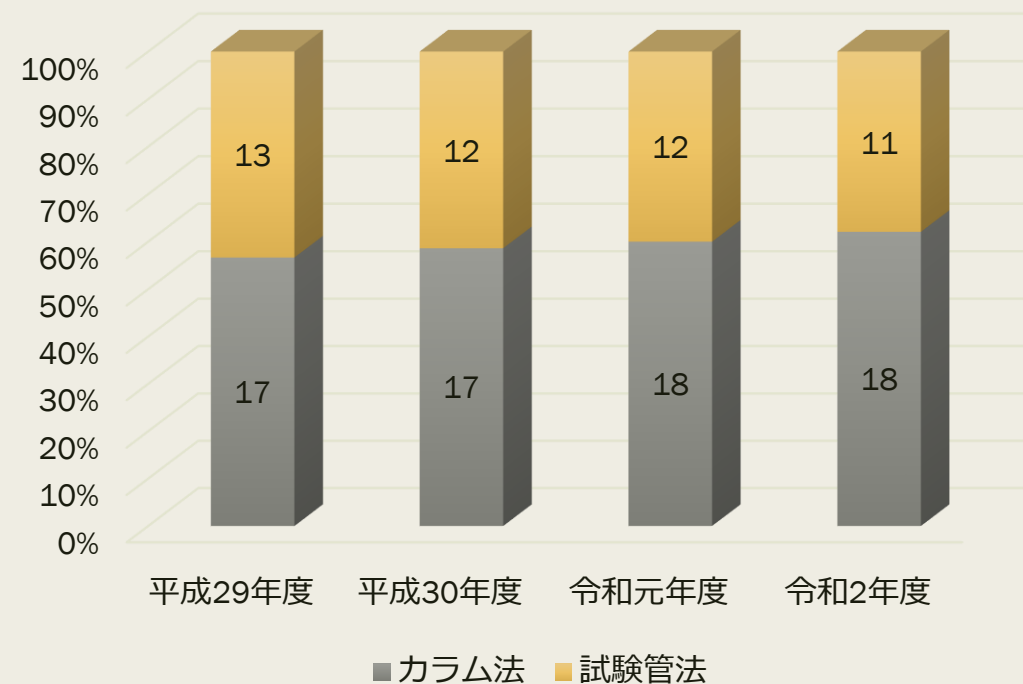
同定検査については対象外。

検査法推移

ABO血液型



不規則抗体



血液型検査 解答

■ 試料 3 1 : O型 RhD陽性

■ 試料 3 2 : AB型 RhD陰性

配布試料は日本赤十字中四国ブロックセンターに依頼し譲渡血を購入。

試料31：O型

	オモテ検査				ウラ検査				
	カラム法		試験管法		カラム法		試験管法		
	抗A	抗B	抗A	抗B	A1	B	A1	B	O
4+	0	0	0	0	15	15	28	28	0
0	15	15	30	30	0	0	0	0	18
NT							2	2	12

■ 正答率：37/38（97%）

（回答施設中2施設がオモテ検査のみ）

■ 判定に記載なし（1）

試料32：AB型

	オモテ検査				ウラ検査				
	カラム法		試験管法		カラム法		試験管法		
	抗A	抗B	抗A	抗B	A1	B	A1	B	O
4+	15	15	30	30	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	15	15	28	28	18
NT							2	2	12

- 正答率：36/38（95%）
（回答施設中2施設がオモテ検査のみ）

- 判定に記載なし（1）
- ウラ検査の判定結果記載なし（1）

試料31：RhD陽性

	カラム法		試験管法	
	抗D	Rhコントロール	抗D	Rhコントロール
4+	15	0	26	0
3+	0	0	3	0
0	0	15	1	26
NT				4

■ 正答率：31/36（86%）

■ 誤回答＋判定記載なし（1）

■ 判定に記載なし（4）

■ Rhコントロール未実施（4）

■ 試験管法にて陰性の誤判定 ⇒ 検体間違い or 入力ミス

試料32：RhD陰性

	カラム法		試験管法	
	抗D	Rhコントロール	抗D	Rhコントロール
4+	0	0	1	0
0	15	15	30	27
NT				4

- 正答率：30/35（86%）
- 誤回答＋判定記載なし（1）
- 判定記載なし（1）
- D陰性確認試験においてクームスコントロール陰性（2）
- D陰性確認試験未実施で陰性判定（1）

- クームスコントロール未実施（3）＊うち1施設はカラム法のため
- Rhコントロール未実施（4）
- D陰性確認試験未実施で判定保留は正解
- 試験管法にて陽性の誤判定 ⇒ 検体間違い or 入力ミス

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂3版）

4.2. 方法および手順

4.2.1. 抗D試薬と同時にRhコントロールを用いて検査を実施する。

4.2.2. Rhコントロールを用いた検査は、自己凝集による偽陽性反応（直接抗グロブリン試験陽性など）に起因する誤判定を防止するために重要である。

4.4. 判定

4.4.1.1. Rhコントロールの直後判定が陰性であることを確認する。

4.4.2.2. Rhコントロールの判定が陽性となった場合は判定保留とし、その原因を精査する。

4.4.3.1. 直後判定のRhコントロールが陽性の原因として、寒冷凝集素（冷式自己抗体）の影響が考えられる場合、37℃に加温した生理食塩液による患者赤血球の洗浄が有効である。

4.4.3.2. D 陰性確認試験のRhコントロールが陽性の原因として、直接抗グロブリン試験陽性が考えられる場合、グリシン・塩酸/EDTA やクロロキンニリン酸による患者赤血球処理が有効である。

輸血テクニカルセミナー2015 実技テキストVer1.2

D陰性確認試験（P12 P13）

IgG感作赤血球の意義と反応が陰性の場合の対応

IgG感作赤血球は、間接抗グロブリン試験の精度管理上、必要不可欠であり、洗浄操作や洗浄回数、抗ヒトグロブリン試薬の添加量が正しかったかを確認するための試薬である。反応が陰性の場合、結果は無効であり、再検査をする必要がある。ただし、血漿（血清）の入れ忘れ、不適切な検体量・反応増強剤添加量・反応温度・反応時間などは確認できない。それらに問題がなければ、別の反応増強剤を用いて間接抗グロブリン試験を再検査する。

血液型検査のまとめ

- 検体間違いもしくは結果入力間違いが見られた。血液型検査は最も重要な検査である。実際の検査であれば重大なミスとなるため、結果入力・確認等のチェック体制を見直す必要がある。
- ABO血液型検査はオモテウラー一致で判定が原則ではあるが、オモテ検査のみ行っている施設においては、判定保留でも正解である。
- RhD検査ではRhコントロールは必須検査である。未実施の場合は判定不能。
- RhD陰性の確定にはD陰性確認試験が必須である。行わない場合は判定保留となる。
- D陰性確認試験は陰性の場合、クームスコントロールを加えて洗浄効果と抗ヒトグロブリン試薬の入れ忘れの確認が必須である。行わない場合は判定不能である。

不規則抗体検査 解答

■ 試料 3 1 : 陽性

■ 試料 3 2 : 陰性

配布試料は日本赤十字中四国ブロックセンターに依頼し譲渡血を購入。

試料31：陽性（抗Fy^b）

- 定性正答率：29/29（100%）

- 同定

可能性の高い抗体：25施設

否定できない抗体：3施設

検出できていない：1施設（Alb-IAT）

抗原陰性選択血 Fy^b抗原陰性（27施設）

- 反応増強剤としてアルブミンを使用している施設：2施設
（うち1施設は不規則抗体不参加）

試料32：陰性

- 定性正答率：29/29（100%）
- 抗原陰性選択血 D抗原陰性（4施設）

- 今回の検体は血液センターからの譲渡血（FFP）を用いているため、自然抗体の抗Fy^bである。
- Duffy抗原は酵素で破壊されるため、主に間接抗グロブリン試験で検出されるが、生食法やブロメリン1段法で検出されることもある。
（参考文献：改訂第4版輸血学）

同定までされている施設においては、可能性の高い抗体として間接抗グロブリン試験で検出されていることから、症例検体としては問題ないと判断した。

酵素法について

- （試験管法） 1 段法：血球＋酵素＋血漿
- （カラム法） 2 段法：酵素＋血球 ⇒ 酵素処理血球＋血漿

1 段法の欠点：血漿中酵素阻害物質による酵素活性低下
酵素による免疫グロブリンの凝集能の低下

- 一般的に、1 段法よりも 2 段法の方が優れている。

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂3版）

5.2.1. 間接抗グロブリン試験は（～中略～）反応増強剤としてポリエチレングリコール液（polyethylene glycol：PEG）を試験管法に、また低イオン強度溶液（low-ionic-strength solution：LISS）を試験管法、カラム凝集法、固相マイクロプレート法に用いることで、反応時間を10分～15分に短縮し、検出感度を上げることができる。

5.2.2. 不規則抗体スクリーニングにおいては、間接抗グロブリン試験を単独で用いることができる。ただし、以下の条件を考慮に入れる。(1)検査実施者について、間接抗グロブリン試験の技能（習熟度）を評価する。(2)試験管法では、IgG 感作赤血球を用い、抗グロブリン試薬の反応性ととも、赤血球の洗浄効果を必ず確認する。(3)定めた手順に従った時、既知の臨床的意義のある抗体が検出されることを定期的に確認する。(4)上記5.2.1.の高感度な方法（反応増強剤を加えた試験管法、カラム凝集法、固相マイクロプレート法など）を用いて間接抗グロブリン試験を実施する。

5.3. その他の方法

酵素法、アルブミン法、生理食塩液法は、不規則抗体を同定する際に有効な場合がある。しかし、非特異反応や臨床的意義のある一部の抗体を検出できないため、不規則抗体スクリーニングで実施する意義は低い。なお、不規則抗体スクリーニングにおいて、これらの方法を単独で用いてはならない。

抗原陰性血の選択

可能性の高い抗体のみ VS 可能性の高い抗体＋否定できない抗体

■ 輸血のための検査マニュアル疑義解釈Q&A Ver.1.3.1

Q2.3.10：‘否定できない抗体’も‘可能性の高い抗体’と同様に、抗原陰性血を適応すべきですか。

A：輸血に際し、臨床的に意義のある抗体が検出された場合は、抗原陰性血の適応になります。“可能性の高い抗体”および“否定できない抗体”は、同定プロセスにおいて推定された抗体特異性にすぎません。いずれの場合も特異性が複数ある場合は追加検査が必要となります。また、たとえ“可能性の高い抗体”であっても抗原陰性血の適応となるためには、患者赤血球の当該抗原の有無や統計学的評価が得られ、有意な同種抗体として同定されてからになります。その際、最寄りの血液センターへ技術協力を依頼し、適合血を入手するなどの対応が必要です。ただし、時間的余裕がなく追加検査が困難である場合において、**臨床的に意義のある“可能性の高い抗体”に対して抗原陰性血を選択することは適応と**考えます。一方、存在が確認されていない“**否定できない抗体”**に対しては、**原則として抗原陰性血の適応とはなりません。**“否定できない抗体”については、抗体の有無を確認するため追加試験を行うことが重要です。その結果、臨床的に意義のある抗体が検出された場合は抗原陰性血を適応します。

不規則抗体検査のまとめ

- 反応増強剤にアルブミンを用いている施設で抗Fy^bが検出できていない。反応増強剤の種類については評価対象外であるが、日臨技や日本輸血細胞治療学会ではPEGやLISSを推奨している。今回、実際に検出されていないことから、早急に採用試薬の見直しを行っていただきたい。
- D陰性確認試験同様、不規則抗体検査が陰性の場合もクームスコントロールを加えて洗浄効果と抗ヒトグロブリン試薬の入れ忘れの確認が必須である。行わない場合は判定不能である。

【参考調査】 直接抗グロブリン試験 解答

- 試料 3 3 : 陽性 (IgG感作血球)
- 試料 3 4 : 陰性

試料33は市販のクームスコントロールを使用。

試料34は血液型用試料を3%浮遊液に調整。

検査法

- 試験管法：26施設
- カラム法：5施設

試料33：陽性（IgG感作血球）

試験管法				
	多特異	単特異	抗補体	対照
4+	5	5	0	0
3+	12	11	0	0
2+	1	4	0	0
1+	0	0	0	0
0	1	0	11	24
NT	7	6	15	2

カラム法				
	多特異	単特異	抗補体	対照
4+	3	2	1	0
1+	0	0	0	1
0	0	0	0	2
NT	2	3	4	2

- 正答率：29/31（94%）
- 誤判定（1）
- 陰性対象陽性のため判定保留（1）
- 抗補体陽性（1）

試料34：陰性

試験管法				
	多特異	単特異	抗補体	対照
3+	1	0	0	0
0	18	19	10	19
NT	7	7	16	7

カラム法				
	多特異	単特異	抗補体	対照
0	3	2	1	3
NT	2	3	4	2

- 正答率：29/31（94%）
- 誤判定（1）
- 入力ミス（1）検査結果陰性だが判定陽性

今後の評価方法

- 結果の入力間違いや試料の取り違いは誤報告となり、重大なアクシデント事例に直結するためあってはならない。
- RhD検査においてRhコントロール未実施は4施設。日臨技精度管理調査では、「次回の評価の見直しの際には、Rhコントロールを実施していない施設に対して、より厳格に評価する予定である」（2019年度日臨技精度管理調査報告書参照）と記載。当サーベイにおいては検査の意義をご理解いただき、次年度から不正解とする。
- クームスコントロール未実施は2施設。Rhコントロール同様、検査の意義をご理解いただき、未実施施設は次年度から不正解とする。
- 次回より直接抗グロブリン試験も評価対象項目とする。
- 今後は、自施設の評価を分かりやすくするため日臨技精度管理調査のように各項目をABCD評価で行い、それを点数化する方法を検討中。

ご清聴ありがとうございました。