

不規則抗体

検査方法

検査方法		H27	H26	H25
		施設数 (%)	施設数 (%)	施設数 (%)
酵素法 間接抗グロブリン法	カラム凝集法	30 (70%)	29 (69%)	25 (57%)
生食法 酵素法 間接抗グロブリン法	試験管法	6 (14%)	6 (14%)	11 (25%)
	カラム凝集法	1 (2%)	2 (5%)	3 (7%)
生食法 間接抗グロブリン法	試験管法	3 (7%)	3 (7%)	3 (7%)
	カラム凝集法	1 (2%)		
間接抗グロブリン法	カラム凝集法	2 (5%)	2 (5%)	2 (5%)
合計		43 (100%)	42 (100%)	44 (100%)

まず、検査方法の集計です。

カラム凝集法を採用している施設が、33施設(79%)から34施設(79%)へ増加しました。

酵素法を行っている施設数に変化はありませんでした。

酵素法の使用試薬

検査方法		H27	H26	H25
		施設数 (%)	施設数 (%)	施設数 (%)
プロメリン	試験管法	6 (14%)	6 (14%)	11 (25%)
	カラム凝集法	7 (16%)	7 (17%)	7 (16%)
フィシン	カラム凝集法	17 (40%)	17 (40%)	14 (32%)
パパイン	カラム凝集法	7 (16%)	7 (17%)	7 (16%)
未実施	試験管法	3 (7%)	3 (7%)	5 (11%)
	カラム凝集法	3 (7%)	2 (5%)	0 (0%)
合計		43 (100%)	42 (100%)	44 (100%)

次に、酵素法を採用している施設の使用している酵素試薬の集計ですが、酵素法の使用試薬に変化はありませんでした。


酵素法の特徴

- Rh系の不規則抗体に対して感度が良い。
- MNSs、Xg、Duffy 抗体は酵素法では陽性に出ないという特性を利用して、抗体推測の手掛かりとなる場合がある。
- 非特異反応が多い。
- 酵素法は陽性だが間接抗グロブリン法が陰性の場合、その抗体の多くは冷式抗体で、臨床的意義はない。
- 原因検索に要する時間だけ、輸血が遅延する。

酵素法の特徴として


【スライド読む】

というスライドを昨年は提示しました。



酵素法のみで検出される抗体の臨床的意義は低いと考えられている。酵素法のみで不規則抗体が検出され、特異性が認められた場合、対応する血液型抗原がホモ接合体の赤血球を用いて、間接抗グロブリン試験で再検査する。

間接抗グロブリン試験の結果が陰性で、3カ月以内に輸血歴や妊娠歴がなければ、原則として抗原陰性血の選択は不要である。



赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドラインより

こちらは、1年前に改定された赤血球型検査ガイドラインに記載されている酵素法に関する内容の一部です。

【スライド読む】

という記載があります。

捉え方によっては、間接抗グロブリン試験の結果が陰性でも、3カ月以内に輸血歴や妊娠歴があり、Rh系の不規則抗体に特異性がある場合は、抗原陰性血の選択も考慮するとも考えられます。

間接抗グロブリン試験により、臨床的に意義のある不規則抗体のほとんどが検出できることから、不規則抗体スクリーニングには間接抗グロブリン試験を必須とし、間接抗グロブリン試験単独でも不規則抗体スクリーニングを行うことができる。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. 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確認する。

赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドラインより

こちらは、赤血球型検査ガイドラインに記載されている酵素法省略に関連した記載です。

【スライド読む】

と記載されています。

また、「間接抗グロブリン試験で用いる反応増強剤には PEG または LISS が望ましい」という記載もあります。

酵素法の省略は、コストや検査効率だけでなく、自施設の検査体制を十分考慮したうえで決定するべきと考えられます。

検査方法		H27	H26	H25
		施設数 (%)	施設数 (%)	施設数 (%)
低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	カラム凝集法	18 (43%)	18 (43%)	14 (32%)
	試験管法	1 (2%)	1 (2%)	2 (5%)
低イオン強度溶液 (LISS) + 抗IgG	カラム凝集法	16 (37%)	14 (33%)	14 (32%)
ホリエフングリコール (PEG) + 多特異性	試験管法	1 (2%)	1 (2%)	4 (9%)
ホリエフングリコール (PEG) + 抗IgG	試験管法	4 (9%)	4 (10%)	3 (7%)
重合ウシアルブミン + 多特異性	試験管法	2 (5%)	1 (2%)	3 (7%)
重合ウシアルブミン + 抗IgG	試験管法	0 (0%)	1 (2%)	1 (2%)
ウシアルブミン + 多特異性	試験管法	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)
未使用 + 多特異性	カラム凝集法	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)
未使用 + 抗IgG	カラム凝集法	0 (0%)	1 (2%)	1 (2%)
合計		43 (100%)	42 (100%)	44 (100%)

こちらは、間接抗グロブリン試験の反応促進剤と抗グロブリン試薬の組み合わせを集計したものです。

反応促進剤未使用の施設がなくなりました。

反応増強剤にアルブミンを使用している施設がありますが

反応増強剤の種類と検出感度

感度：PEG>LISS>アルブミン

間接抗グロブリン試験は、検出感度を考慮しPEGまたはLISSの使用を推奨する。

【ALB-IATを推奨しない理由】

1. 検出感度の点でLISS-IATよりわずかに劣る
2. 試薬の粘性が高いため滴下量が一定になりにくく、施設間や検査者によって結果に差異が生じやすい

しかし、ALB-IATは、偽陽性または不要な陽性反応の頻度は低く、ある程度の感度が得られることからALB-IAT自体を否定するものではありません。

輸血のための検査マニュアル 疑義解釈Ver.1.2より

赤血球型検査ガイドラインでは「間接抗グロブリン試験で用いる反応増強剤にはPEGまたはLISSが望ましい」と記載されています。

また、輸血のための検査マニュアル 疑義解釈Ver.1.2にはこの様な記載がありません。

【スライド読む】

検出感度が高い点と、不慣れな方であっても安定した結果が得られる点からALB-IATよりLISS-IATを推奨しているということでした。

PEGの注意点

- グロブリン値の高い血清検体又は血漿検体の場合ヒト蛋白を除去するために3回以上の洗浄が必要です。
- ポリエチレングリコールを使用した場合、多特異性抗ヒトグロブリンでは非特異反応があると警告されており、抗IgGのみが使用に適しているとされています。

ガンマ ペグ (PeG) 使用説明書より

- イムコア ガンマPEG : 3回以上
- 和光純薬 ポリエチレングリコール溶液 : 4回以上
- オーソ オーソPEG : 3~4回

今後、反応促進剤をPEGに変更しようとする施設もあると思いますが、PEGにはこの様な注意が必要です。

【スライド読む】

間接抗グロブリン試験を実施した後にIgG感作赤血球による確認が必要なことは、PEGに限ったことではありませんが、異常 γ グロブリンや高 γ グロブリン血症の検体はPEGを添加すると強く白濁し、遠心洗浄中に γ グロブリンが沈殿しやすくなります。その際、沈殿した γ グロブリンによって抗グロブリン試薬が中和され偽陰性を起すことがあるため、IgG感作赤血球による確認は特に重要です。

配布試料

試料No	不規則抗体
41	陽性（抗 E）
42	陽性（抗 K）

試料 41 は不規則抗体スクリーニング陽性検体で抗 E の特異性を認めます。
試料 42 は不規則抗体スクリーニング陽性検体で抗 K の特異性を認めます。

試料41の回答状況

判定	生食法	酵素法	間接抗グロブリン法	施設数 (%)
陽性	未実施	未実施	陽性	32 (74%)
	陰性	陰性	陽性	8 (19%)
	陽性	陽性	陽性	3 (7%)
陰性				0 (0%)
合計				43 (100%)

試料 41 の不規則抗体スクリーニングの集計結果です。

試料41の不規則抗体同定結果

同定結果	施設数 (%)
抗E	29 (91%)
抗E (抗P1)	2 (6%)
抗E (抗Di ^a)	1 (3%)
合計	32 (100%)

()内は否定できない抗体

試料 41 の同定検査の集計結果です。

()内は否定できない抗体です。

同定検査を実施したすべての施設で最も疑わしい抗体として 抗 E が報告されており、良好な結果でした。

否定できない抗体として抗P1を記載した施設が2施設ありました。精度管理ということで記載したのかもしれませんが、抗P1は臨床的意義はなく抗原陰性製剤の選択も必要ないとされているので、実際の検査の際、臨床側への報告の対象とするかどうかは各施設で検討していただきたいと思います。

試料42の回答状況

判定	生食法	酵素法	間接抗グロブリン法	施設数 (%)
陽性	未実施	陰性	陽性	22 (51%)
	陰性	陰性	陽性	4 (9%)
	陰性	未実施	陽性	2 (5%)
	未実施	未実施	陽性	3 (7%)
陰性	未実施	陰性	陰性	7 (16%)
	陰性	陰性	陰性	3 (7%)
	陰性	未実施	陰性	2 (5%)
合計				43 (100%)

試料 42 の不規則抗体スクリーニングの集計結果です。

31施設(72%)が陽性、12施設(28%)が陰性と回答しました。

ここで、試料42について説明させていただきます。

試料42は、市販の抗血清を添加して作成した試料です。

例年、血液センターから不規則抗体陽性血漿をいただいて精度管理試料としていますが、抗E や抗M 以外の抗体や複数抗体の入手が難しい状況です。そこで、今後の試料作成の検討も含め、市販の抗血清を添加して試料を作成したのですが、予算の関係等もあり、抗体価がとても低くなってしまいました。

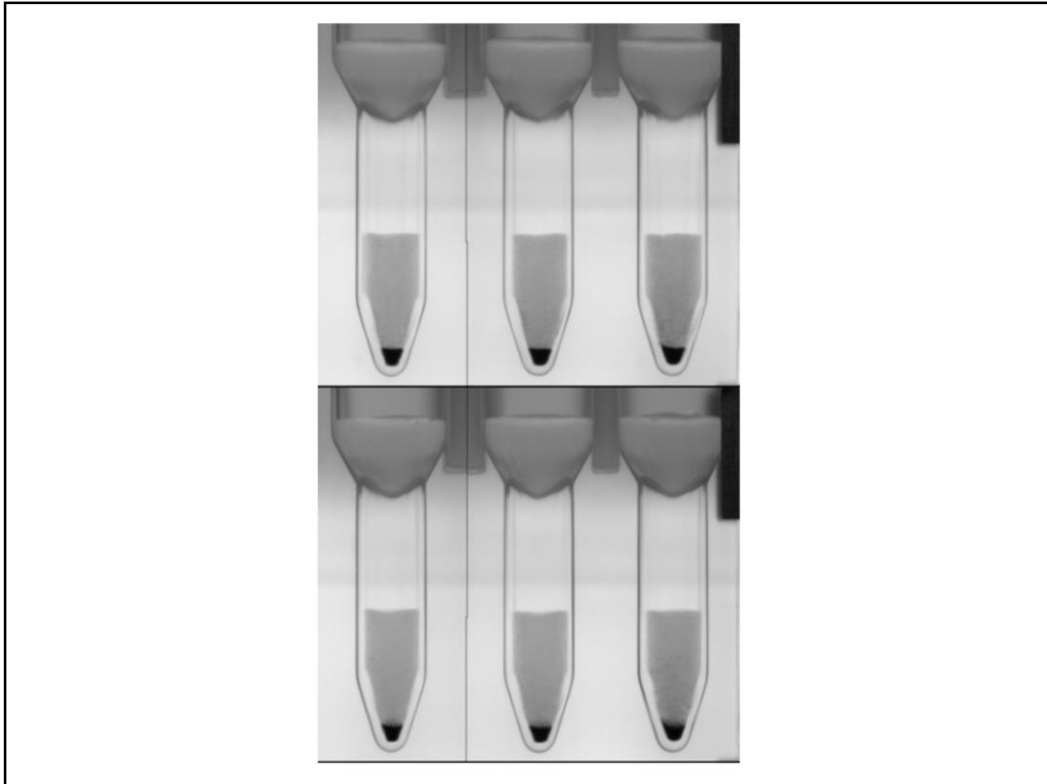
試料42の検査方法別集計

間接抗グロブリン法	陽性	陰性
カラム凝集法(ビーズ) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 抗IgG	12	2
カラム凝集法(ビーズ) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	5	3
カラム凝集法(ゲル) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 抗IgG	2	
カラム凝集法(ゲル) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	8	2
試験管法 : ポリエチレングリコール (PEG) + 抗IgG	3	1
試験管法 : ポリエチレングリコール (PEG) + 多特異性		1
試験管法 : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	1	
試験管法 : 重合ウシアルブミン + 多特異性		2
試験管法 : ウシアルブミン + 多特異性		1
総計	31	12

試料42の検査方法別の集計結果です。

カラム凝集法については、27施設が陽性、7施設が陰性と報告しています。陽性の施設と陰性の施設を比べても、メーカー、試薬の組み合わせでの偏りは認められませんでした。また、赤血球試薬のLotの違いによる偏りも認められませんでした。

【click】



これは、陰性と報告した施設の反応像です。機器は陰性と判定していましたが、目視すると、細かい凝集があるのがわかります。

メーカーに確認し、この程度の凝集を陽性と判定するよう設定を変更することは可能かと確認しましたが、できないという回答でした。

試料42の検査方法別集計

間接抗グロブリン法	陽性	陰性
カラム凝集法(ビーズ) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 抗IgG	12	2
カラム凝集法(ビーズ) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	5	3
カラム凝集法(ゲル) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 抗IgG	2	
カラム凝集法(ゲル) : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	8	2
試験管法 : ポリエチレングリコール (PEG) + 抗IgG	3	1
試験管法 : ポリエチレングリコール (PEG) + 多特異性		1
試験管法 : 低イオン強度溶液 (LISS) + 多特異性	1	
試験管法 : 重合ウシアルブミン + 多特異性		2
試験管法 : ウシアルブミン + 多特異性		1
総計	31	12

PEG - クームスについては、3施設が陽性、2施設が陰性と報告していますが、PEG - クームスは他の方法に比べ感度が優れていると考えられているため、陰性と判定した施設では手技などに不備がないかの確認が望まれます。

ALB - クームスは、3施設だけですが、全ての施設が陰性と判定していました。ALB - クームスはPEGやLISSを用いた方法に比べて感度がやや劣ることが知られていますので、試薬変更の検討が望まれます。

試料42の不規則抗体同定結果

同定結果	施設数 (%)
抗K	23 (72%)
抗K(抗Jk ^b)	1 (3%)
抗K(抗Le ^a 、抗M)	1 (3%)
判定保留(抗K)	1 (3%)
陰性	6 (19%)
合計	32 (100%)

()内は否定できない抗体

試料 42 の同定検査の集計結果です。

同定検査を実施したすべての施設で 抗K が報告されておりました。

まとめ

「Blood Transfusion Services in the United Kingdom (UKBTS)」には、「間接抗グロブリン法を用いた不規則抗体スクリーニングでは、バッチごとに陽性、陰性のコントロールをおくべきである。陽性コントロールには低力価の抗D(0.1 IU/mL以下)を使用する。」と記載されている。今回の精度管理の結果を考えると、このような管理試料の使用も考慮することが望まれる。

United Kingdom: イギリス

自動分析機は、メーカー指定の精度管理試料で定期的な管理を行っているはずで
す。

試験管法においても定期的な精度管理は必要で、簡単な方法としては、IgG感作赤
血球と抗グロブリン試薬を反応させ、一定の強さの凝集が認められるか確認する
という方法がありますが、この方法だと抗グロブリン試薬の確認しかできません。

各メーカーから精度管理試料が販売されており、このような精度管理試料を使用
すれば、抗グロブリン試薬だけでなく、恒温槽、遠心機、生理食塩液、反応促進剤
などの不具合も発見できる可能性がありますので、やはり専用試料の使用が推奨
されます。

自動分析器を使用している施設では、自動分析器用の精度管理試料を試験管法の
精度管理に流用するのも有用であると考えます。

0.1 IU/mLという濃度は、「低濃度の不規則抗体を検出することができるか」を確認
するという目的としては高すぎるということでした。

今回の精度管理では、新しい試みとして、市販の抗血清を添加して試料を作成しま
したが、抗体価がとても低くなってしまいました。ある意味では有意義な試料では
したが、精度管理の試料としては適切ではなかったかもしれませんので、その点に
ついてはお詫びしたいと思います。