

原 著

## カラム凝集法を用いた輸血検査における自動化の問題点 血漿検体の有用性

細川 美香 大西 修司 阿部 操 岡前 文子 山岡 学  
大谷 哲司 松崎 龍典 寺岡 敦子 岸本 裕司 福原 資郎

関西医科大学附属病院輸血部

(平成12年10月6日受付)

(平成13年4月21日受理)

### THE STUDY OF AUTOMATIC TRANSFUSION TEST USING COLUMN AGGLUTINATION TECHNOLOGY THE APPLICATION OF PLASMA SAMPLES

Mika Hosokawa, Shuji Onishi, Misao Abe, Fumiko Okamae, Manabu Yamaoka,  
Tetsuji Otani, Tatsunori Matsuzaki, Atsuko Teraoka  
Yuji Kishimoto and Shirou Fukuhara

Department of Blood Transfusion, Kansai Medical University

We introduced Auto-Vue(Ortho Co.) full automation system of column agglutination technology (CAT) to our range of routine tests in January 1999. Although it is advisable to use plasma samples when automation is a factor, it has been our practice to use serum in conventional tube technique (TT). We compared the titer of various antibodies of EDTA plasma with serum in the Auto-Vue examination and found no difference between them concerning sensitivity of detection. Next, we found that positive samples of self-controls were more numerous in the CAT method than in the TT. No instance of auto-antibody was detected in those samples whose self-controls were positive in CAT and negative in TT. Additionally, it was observed that higher globulin value, lower specific gravity of erythrocytes and higher leukocytes count were frequently associated with false positive results of self-controls in CAT. As a result, plasma samples were useful for detection of antibodies in the CAT method. These results allow for the standardization of transfusion tests, increasing the efficiency of tasks and returning the results of tests more rapidly than before by using the Auto-Vue system.

**Key words** : Serum, Plasma, Column agglutination technology, Automatic transfusion test system

最近の輸血検査業務は多様化とともに、複雑化しており、より効率的な検査方法が求められている。また、従来の試験管法(TT)では検査技師間の熟練度や凝集像の見方の違いから生じる個人差の解消、再現性の向上及び定量化などが課題となっている。これらのことから、輸血検査の標準化を目指した自動化機器導入の試みが各施設で進

められており<sup>1)~5)</sup>、当院でも1999年1月から全自動輸血検査システムAutoVue(Ortho社)によるルーチン検査を実施している。自動化にあたっては血漿検体を用いることが前提となるため、今回血清と血漿を用いてAutoVueを用いたカラム凝集法(CAT)により検査を行い、自動化における血漿検体の有用性を検討した。また、CATでの自

Reaction Picture						
Decision	4+	3+	2+	1+	W+	0

Fig. 1 Agglutination Reaction Patterns and Scoring Decision in Auto Vue

己対照陽性例についても TT と比較し，血液検査結果や病名をふまえて検討したので報告する。

### I 対象および方法

CAT は Auto Vue の測定方法に従い<sup>6)</sup>以下の検討を行った (Fig. 1)。

1) 同種抗体検出における血清 (プレイン採血) と血漿 (EDTA-2Na 採血) の比較

過去 2 年間に TT で同定した凍結 (-40 ) 保存検体 (抗 D 3 件，抗 E 5 件，抗 E+c+ Jk<sup>a</sup> 1 件，抗 E+Jk<sup>b</sup> 1 件，抗 Jk<sup>b</sup> 2 件，抗 Fy<sup>a</sup> 1 件，抗 Fy<sup>b</sup> 3 件，抗 Le<sup>a</sup> 2 件，抗 M 2 件，抗 S 2 件，抗 Di<sup>a</sup> 3 件，抗 Jr<sup>a</sup> 2 件) を用い，血清は広範囲抗グロブリン抗体を充填した CAT 法 (Poly カセット法)，血漿は抗 IgG 抗体を充填した CAT 法 (IgG カセット法) で抗体価を測定した。

2) 自己対照陽性検体の解析

#### ① CAT と TT の比較

不規則抗体スクリーニング検査依頼のあった 4,210 件を対象とし，IgG カセット法の自己対照 (CAT-A) 陽性検体について，TT で自己対照 [ IAT (間接抗グロブリン試験) A ] の再検を行い，また，TT の直接抗グロブリン試験 (DAT) は全例行い比較した。また TT 陽性例については DT 解離法で抗体解離試験を実施した。

#### ② 血液検査結果による解析

a) CAT-A が W+ のうち調査が可能であった 73 件中，間接ビリルビンの増加 (1mg/dl 以上)，網赤血球の増加 (3% 以上)，ヘモグロビン (Hb) の低下 (男子 12.5g/dl 未満，女子 11.5g/dl 未満)

を示す検体数を調査した。

b) CAT-A 陽性で IAT-A，DAT とともに陰性のうち調査が可能であった 172 件と CAT-A 陰性であるものからランダムに選んだ 100 件について，血液生化学検査及び血液検査の結果を調査し比較した。

#### ③ 病名による解析

CAT-A 陽性で IAT-A，DAT とともに陰性となった患者の病名について調査した。患者によっては複数の病名が存在するが，そのまま集計した。

## II 結果

1) 同種抗体検出における血清と血漿の比較 (Table 1)

検体 No. 12 の抗 E と No. 13 の抗 Jk<sup>b</sup> の抗体価は血清で 2 管強く，No. 5 の抗 E，No. 16 の抗 M，No. 19 の抗 S，No. 20 の抗 Jk<sup>b</sup>，No. 26 の抗 Di<sup>a</sup> は 1 管強い反応を示した。逆に No. 10 の抗 c，No. 15 の抗 Le<sup>a</sup>，No. 23 の抗 Fy<sup>b</sup>，No. 30 の抗 Jr<sup>a</sup> では血漿で 1 管強い反応を示した。その他の検体は全て一致した。

2) 自己対照陽性検体の解析

① 不規則抗体スクリーニング検査検体 4,210 件中 CAT-A 陽性は 325 件 (陽性率 7.7%) であった。CAT-A 陽性のうち W+ は 155 件 (47.7%) で，それらは全て IAT-A，DAT 陰性であった。また CAT-A で 1+ の 147 件 (45.2%) 中に IAT-A 陽性 15 件，DAT 陽性 10 件を認め，このうち 6 件は抗体解離試験で陽性を認めた。CAT-A で 2+ の 20 件 (6.2%) 中では IAT-A，DAT とともに陽性が 13

Table 1 The Comparison of The Titer of Antibodies in Serum and Plasma

No.	Antibody	Titer		No.	Antibody	Titer	
		Serum	Plasma			Serum	Plasma
1	Anti D	16	16	16	Anti M	16	8
2	Anti D	16	16	17	Anti M	4	4
3	Anti D	2	2	18	Anti S	32	32
4	Anti E	8	8	19	Anti S	2	1
5	Anti E	1,024	512	20	Anti Jk <sup>b</sup>	4	2
6	Anti E	8	8	21	Anti Jk <sup>b</sup>	2	2
7	Anti E	8	8	22	Anti Fy <sup>a</sup>	4	4
8	Anti E	4	2	23	Anti Fy <sup>b</sup>	4	8
*9	Anti E	32	32	24	Anti Fy <sup>b</sup>	32	32
*10	Anti c	8	16	25	Anti Fy <sup>b</sup>	4	4
*11	Anti Jk <sup>a</sup>	8	8	26	Anti Dj <sup>a</sup>	32	16
12	Anti E	64	16	27	Anti Dj <sup>a</sup>	2	2
13	Anti Jk <sup>b</sup>	32	8	28	Anti Dj <sup>a</sup>	2	2
14	Anti Le <sup>a</sup>	2	2	29	Anti Jr <sup>a</sup>	64	64
15	Anti Le <sup>a</sup>	4	8	30	Anti Jr <sup>a</sup>	2	4

Serum : Poly( anti IgG + C<sub>3b</sub> and C<sub>3d</sub> )cassette  
 Plasma : IgG cassette

\* , : Found in The Same Sample

Table 2 The Comparison of Self Control in Auto Vue and in The Tube Test

The Result	CAT-A	Tube Test					
		IAT-A		DAT		Elution Test	
		-	+	-	+		
W+	155( 47.7% )	155	0	155	0	5	
1+	147( 45.2% )	132	15	137	10		
2+	20( 6.2% )	7	13	7	13		3
3+	2( 0.6% )	0	2	0	2		1
4+	1( 0.3% )	0	1	0	1		1
合計	325( 100% )	294	31	299	26		

( The Positive Ratio of Self Control in Auto Vue:325/4,210 = 7.7% )

件あり，このうち3件は抗体解離試験で陽性を認めた．CAT-Aで3+以上の3件(0.9%)はIAT-A, DATでも全て陽性であり，このうち2件は解離試験で陽性を認めた( Table 2 )．

解離試験陽性検体のうち1件はATG( Anti-thymocyte globulin )投与による影響で，その他は温式自己抗体保有患者であった．解離試験陰性検体は抗生物質投与による影響のものと，IgG高値によるIgGの非特異的な吸着と考えられるものであった．

② a) CAT-AがW+の73件中，Hbの低下している検体は多く見られたが，間接ビリルビンの増加(1mg/dl以上)および網赤血球の増加(3%以上)を示す検体は0件であった．

b) CAT-A陽性で，IAT-A, DAT陰性の172件はCAT-A, IAT-A, DAT全て陰性の100件と比較して，総蛋白・白血球数の平均値が有意に高値を示し，逆にアルブミン・A/G比・Hb・平均赤血球Hb濃度(MCHC)・プロトロンビン時間(PT)・ヘパラスチンテスト(HPT)の平均値は

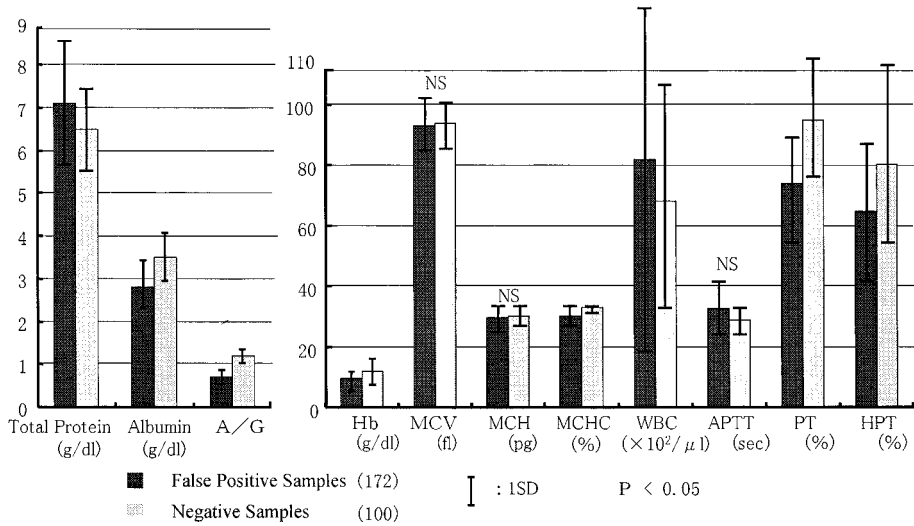


Fig. 2 The Laboratory Analysis of The Samples Whose Self Control Were Found False Positive in Auto Vue

有意に低値を示した ( Fig. 2 ).

③ CAT-A 陽性で , IAT-A , DAT 陰性となった 295 例の病名を調査すると , 固形癌が 18% に認められ , 肝癌の 15% と肝炎患の 12% を合わせると 45% となった . さらに糖尿病が 10% , 鉄欠乏性貧血が 8% に認められた ( Fig. 3 ).

### III 考 察

自動化にあたっては抗凝固剤入り検体が必須条件で , それによって血漿を用いて検査を行わなければならないため , 補体結合性抗体を見逃す危険性を考える必要性が生じてきた . 我々は Bio Vue<sup>7B</sup> 導入時に CAT を用いて血清と血漿の比較を行い , 補体結合性抗体と IgM 型抗体において若干の反応性が低下することを報告しており<sup>9)</sup> , 道野らも反応が極めて微弱な抗 Jk<sup>b</sup> 抗体が血清のみで反応を示し , 血漿では検出できなかったと報告しているが , 自動化のメリットを考慮すると血漿における不規則抗体検査は有用であると附記している<sup>10)</sup> . しかし , 血清と血漿検体の間で不規則抗体の検出感度に差は認められないという報告例もあり<sup>11)12)</sup> , また Reis らも輸血副作用に関連する臨床的重要な抗体が , 従来の TT における間接抗グロブリン試験において , 抗補体成分を含

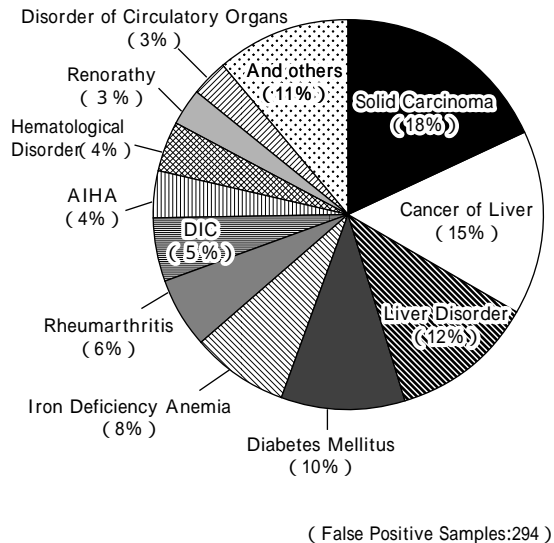


Fig. 3 The Disorders of The Patients Whose Self Control Were Found False Positive in Auto Vue

まない抗 IgG を使用した場合でも , 広範囲抗グロブリン試薬を用いた場合と同程度あるいはそれ以上の感度で検出できることを証明している<sup>13)</sup> . 我々の検討では TT (血清) と CAT (血漿) の検出感度を比較すると , TT のアルブミン / IAT 法と CAT は同程度であるが , TT の PEG / IAT 法では

やや感度が高いと考えられる<sup>2)</sup>。しかし、TTの判定ではピペティングや試験管の振り方などの技術面以外に、個人の注意力、判断力、観察力、精神状態や健康状態によっても判定結果に誤差が生じる可能性がある。今回我々が行った Auto Vue による CAT での血清検体と血漿検体の抗体価の比較においては、いずれの抗体もその抗体価は2管差以内で有意な差は認められなかった。このことから、Auto Vue で血漿検体を用いた場合でも臨床的意義のある抗体を見落とすことなく検出することができると思われ、客観性（複数の技師による判定）、再現性又は標準化などの観点から総合的に考えると、むしろ血漿検体を用いた CAT の有用性は TT と同程度あるいはそれ以上であると考えられた。さらに、抗凝固剤入り検体は血清分離が困難な場合、特に緊急時の検査にも対応しやすいという利点もあった。

CAT-A は陽性率 7.7% と高い傾向を認めたが、約半数を占める w+ (47.7%) のものは全例が IAT-A, DAT とともに陰性であり、間接ビリルビン、網赤血球がともに増加しているような溶血所見を示す検体もなかったことから偽陽性と推定した。また判定 1+ 以上のものについては温式自己抗体が含まれる可能性が示唆されたため、精査が必要であると考えられた。即ち CAT-A で陽性反応を見落とすことはないが逆に感度が高すぎる傾向があるため、判定基準をどこに定めていくかは各施設で検討しなければならない。また、自己対照偽陽性群では総蛋白が高値を示し、アルブミン・A/G 比は低値を示すことからグロブリン高値が示唆され、これは DAT に比べ CAT では赤血球結合 IgG 分子数が少なくても陽性と判定されるという報告と一致する<sup>14)-16)</sup>。Hb・MCHC については偽陽性群の方が低値で、赤血球の比重が軽いことによっても偽陽性になることが示唆され、Fig. 1 に示した偽陽性群の 8% に認められる鉄欠乏性貧血もその一部と思われた。これは CAT の抗グロブリン法の原理に比重勾配遠心法が応用されているためと考えられた。また、白血球数では偽陽性群の方が高値を示し、Buffy coat の混入により白血球が検体採取後の時間経過とともに崩壊

してできた細胞の破片などが、ガラスビーズ通過時に赤血球に付着したままトラップされる現象が起こっているのではないかと考えられた。PT・HPT でも偽陽性群と陰性群とで差が認められたことから、原因は明らかでないが凝固線溶系の異常がみられる場合にも疑陽性になりやすいと思われる。固形癌(18%)、肝癌(15%)、肝疾患(12%) および糖尿病(10%) など凝固線溶系の異常が知られている疾患が、偽陽性群に Total で 55% と多くみられた傾向と一致する。

#### IV まとめ

輸血検査の自動化にあたっては抗凝固剤採血による検体を用いるため、抗体検出において血漿検体であることに留意する必要があるが、それを考慮しつつ当院では Auto vue を用いた血液型・抗体スクリーニング検査を自動化することにより、TT と比較しても検出感度を低下させることなく検査の標準化及び業務の効率化を図ることができた。輸血検査の自動化においても、より安全な輸血の実施を目的として、機器や検査法などの特性をよく理解し、各施設で何が求められているのかを確認することが重要であると思われた。

#### 文 献

- 1) 平野武道：CAT 法における反応結果の標準化についての評価検討。臨床検査機器・試薬, 20(6): 879-888, 1997.
- 2) 寺岡敦子：当院における自動化機器導入の現状。日本輸血学会誌, 45(6): 929-931, 1999.
- 3) 押野政次：Micro Typing System の基礎的検討(II) 抗体同定試験について。臨床検査機器・試薬, 17(2): 423-432, 1994.
- 4) 山根和恵：不規則抗体スクリーニング用 Solid phase system( Capture-R Ready Screen )の基礎的検討。臨床検査機器・試薬 22(2): 181-185, 1999.
- 5) 道野淳子：キャプチャー R レディ・スクリーンの使用経験 カラム凝集法との比較を中心に。臨床検査機器・試薬, 22(3): 275-281, 1999.
- 6) Ortho Auto Vue™ System user manual, オース・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社。
- 7) Dr. Bernard Lamy: BioVue A New Concept in Immunohematology. Translated and reprinted from original article in ORTHO magazine No. 4: 1992.
- 8) Bio Vue Scientific Monographs, 第 1 巻。Ortho-

- Clinical Diagnostics k.k., 1996.
- 9) 石田萌子, 他: 輸血検査におけるカラム凝集法の導入 取り扱い上の注意点 . 医学検査, 20: 863-874, 1997.
  - 10) 道野淳子, 他: 血漿を用いた不規則抗体検査の試み 自動化に向けて . 日本輸血学会誌 (第45回総会抄録集): 270, 1997.
  - 11) Kitagawa, et al. : Donor Antibody Detection Using Plasma in Place of Serum. Transfusion, 19 (1): 60-62, 1979
  - 12) Chapman, J. F. : Five year experience of using plasma for antibody screening and cross-matching. Transfusion Medicine : Vol. 4 Supplement : 35, 1994.
  - 13) Reis, K.J., et al. : Column agglutination technology. Transfusion, 33: 639-643, 1993.
  - 14) 小山田隆, 他: カラム凝集法による自己免疫性溶血性貧血スクリーニングの有用性と問題点 . 日本輸血学会誌 (第46回総会抄録集): 201, 1998.
  - 15) 近江俊徳, 他: 温式自己免疫性溶血性貧血における赤血球結合 IgG 量の測定とその意義 . 日本輸血学会誌, 38: 601-606, 1992.
  - 16) 菅野直子, 他: カラム凝集法による赤血球凝集反応 試験管法, ピーズ法, ゲル法の比較検討 . 医学検査, 49(6): 951-955, 2000.
-