

報 告

自動輸血検査装置 ID-GelStation の使用経験  
試験管法及び AutoVue との比較検討

宮子 博<sup>1)</sup> 立川 良昭<sup>1)</sup> 岩男千恵子<sup>1)</sup>  
曲 泰弘<sup>2)</sup> 菊池 博<sup>1)</sup> 犀川 哲典<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大分医科大学附属病院輸血部

<sup>2)</sup>同 検査部

(平成 14 年 11 月 5 日受付)

(平成 15 年 6 月 30 日受理)

EXPERIENCE IN USING AUTOMATIC EQUIPMENT FOR BLOOD  
TRANSFUSION TESTING, "ID-GELSTATION (Dia Med)"  
COMPARATIVE STUDY OF AUTOVUE SYSTEM AND STANDARD TUBE TEST

Hiroshi Miyako<sup>1)</sup>, Yoshiaki Tachikawa<sup>1)</sup>, Chieko Iwao<sup>1)</sup>, Yasuhiro Magari<sup>2)</sup>,  
Hiroshi Kikuchi<sup>1)</sup> and Tetsunori Saikawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Blood Transfusion Center, Oita Medical University

<sup>2)</sup>Department of Clinical Laboratory Center, Oita Medical University

We compared the ID-GelStation (GS) with AutoVue system (AV) equipment and standard tube test (TT) with regard to ABO and Rh blood typing and red cell antibody screening in 190 samples, 59 antibody-positive sera and 71 antibodies. GS showed an equal reaction to TT and AV in ABO cell typing and Rh typing. In ABO reverse typing, GS tended to show a stronger reaction than AV but a weaker reaction than TT, with which 9 of 109 samples needed to be retested.

In red cell antibody screening for 71 antibodies, the papain two-stage technique of GS apparently showed stronger reaction than the bromelain one-stage technique, especially for anti-Rh antibody. Further, GS detected antibodies such as anti-Fy, anti-Jk and anti-Jr which were detectable in antiglobulin testing. GS was more sensitive for anti-Rh antibody than AV in antiglobulin testing, the most important in the present blood transfusion tests. However, GS was less sensitive than the polyethylene glycol antiglobulin test (PEG-IgG) of TT. Only 4 of 10 anti-Fy and anti-Jk could be detected, suggesting that GS and AV, in which a low ionic strength solution (LISS) is used, have lower ability to detect low titer antibodies than PEG-IgG. Use of the more sensitive PEG-IgG may be for the detection of some low titer antibodies.

**Key words** : AutoVue, blood grouping, column agglutination technology, ID-Gelstation, red cell antibody screening

当輸血部では 2001 年 11 月より検査部、病理部と合同で輸血検査の時間外対応を開始した。時間内ルーチン検査では血液型と抗体スクリーニングの酵素法に AutoVue (以下 AV) を使用している

が、血液製剤供給に重要な迅速性と正確性において試験管法に及ばない事と、オペレーション操作が煩雑な事から時間外検査に AV を導入していないのが現状である。しかし、輸血検査経験の少

Table 1 Methods and Reagents

Tests	ID-GelStation (DiaMed)	AutoVue (Ortho)	Standard tube method
ABO-Rho (D) typing	ABD card (mono)	Anti-A/B/D cassette	
ABO reverse typing	ID-DiaCell ABO A1-B	Affirmagen	Affirmagen (Ortho)
Antibody screening IAT	IgG card	Anti-IgG cassette	PEG (Immucor) Anti-IgG (Immucor) Coombs control cell
Antibody screening Enzyme method Pre-treatment	NaCl/Enzyme card ID-Papain	Neutral cassette Ficin solution (Gamma)	Bromelin L (Kokusai)
Antibody screening Cell	Panoscreen (Immucor) Lot. 17231		

ない検査部技師との合同当直制において自動機器を用いた標準化への取組みは必要である。

今回、オリンパスプロマーケティング(株)の協力により、ゲルカラム遠心凝集法を用いて血液型検査、不規則抗体検査、交差適合試験をバーコード管理で判定・報告まで全自動で実施でき、判定結果も画像データとして保存できるID-Gel-Station (DiaMed: 以下GS)を検討する機会を得た。血液型検査と抗体スクリーニング検査について、GSとAV及び試験管法の成績を比較検討した。また、GSを時間外検査に導入した場合の問題点を抽出し、どのように活用することでリスクの少ない輸血検査体制を構築可能なのか検討したので報告する。

### I 対象ならびに方法

血液型検査はルーチン検査 190 検体を用いて、GSとAVを比較した。当輸血部ではウラ試験が2+以下の凝集は精査対象としていることから、2+以下の場合には試験管法にて確認検査を実施した。

抗体スクリーニング検査は、ルーチン 190 検体中陽性の4検体および2001年4月から2002年3月までのルーチン検体からFicin2段法又はPEG-IgG法により抗体が検出、同定された検体内、検討に必要な分量の血漿が確保できた - 30 保存55検体の合計59検体71抗体を用いた。GSではPapain2段法(以下PapII)と間接抗グロブリン試験(indirect antiglobulin test; 以下IAT), AVではFicin2段法(以下FicII)とIAT, 試験管法で

は生食法, Bromelin1段法(以下Brol), PEG-IgG法(以下PEG-G)を実施し比較した。

使用した抗体の内訳は、抗C1件、抗D3件、抗Di<sup>a</sup>2件、抗E22件、抗Fy<sup>b</sup>8件、抗f1件、抗Jk<sup>a</sup>1件、抗Jr<sup>a</sup>2件、抗Le<sup>a</sup>8件、抗Le<sup>b</sup>1件、抗C+e1件、抗c+E3件、抗C+e+Jk<sup>b</sup>1件、抗c+Di<sup>a</sup>+E1件、抗Di<sup>a</sup>+E1件、抗E+Jk<sup>a</sup>2件、抗Le<sup>a</sup>+Le<sup>b</sup>1件である。尚、複合抗体における抗体毎の反応性は同定検査を実施し確定した。これらの抗体検査に使用した検体は、ゴールドスタンダードとしてとらえているのではなく、今回検討の試験管法と自動機器の比較を判断するためのサンプルとしてとらえている事を付記する。

### II 検査試薬

検査項目・検査法別に使用した試薬の一覧をTable 1に示す。スクリーニング血球については試薬及びロット間の誤差をなくすため、全ての方法でPanoscreen Lot. 17231 (Immucor)を使用した。各検査法に用いた血球試薬は、抗原性劣化防止のため当日調整し、品質管理のため当輸血部で内部精度管理に使用しているAV用管理血清(酵素法: 抗E, 抗Le<sup>a</sup> IAT: 抗Fy<sup>b</sup>, 抗Jk<sup>a</sup> 患者由来抗体をPanoscreenのホモ血球で1+の凝集に調整)を用いて抗体が検出出来ることを確認後、検討に使用した。

#### (1) GS Papain 処理血球の調整

①洗浄血球沈査35μlにID-Papainを100μl添加, 37 15min加温。②生食で2回, ID-Diluent2で1回洗浄。③ID-Diluent2で血球濃度1%に調

Table 2 Results of ABO and Rho ( D ) typing

Blood Group	ID-GelStation					AutoVue				
	anti-A	anti-B	anti-D	cont	number of samples	anti-A	anti-B	anti-D	cont	number of samples
Group A, Rho ( D ) positive	4 +		4 +		74	4 +		4 +		74
Group B, Rho ( D ) positive		4 + 3 +	4 + 4 +		43 2		4 +	4 +		45
Group B, Rho ( D ) negative		4 +			1		4 +			1
Group O, Rho ( D ) positive			4 +		48			4 +		48
Group O, Rho ( D ) negative					1					1
Group AB, Rho ( D ) positive	4 +	4 +	4 +		20	4 +	4 +	4 +		20
Chimera ( A + AB )	4 +	dp	4 +		1	4 +	4 +	4 +		1
Total					190					190

( dp : double cell population )

整 .

## ( 2 ) GS IAT 用血球の調整

①洗淨血球沈査を ID-Diluent2 で血球濃度 1% に調整 .

## ( 3 ) AV Ficin 処理血球の調整

①洗淨血球沈査 35 $\mu$ l に Ficin 溶液 100 $\mu$ l 添加 , 37 15min 加温 .②生食で 3 回洗淨 .③生食で血球濃度 5% に調整 .

## ( 4 ) AV IAT 用血球の調整

①洗淨血球沈査を OAES ( Ortho ) で血球濃度 5% に調整 .

## III 結 果

## 1 . 操作性

GS はオーダー受信と結果送信の双方向通信ができる . このことは , 当院ではバーコード対応のオーダーリングを採用しているため , 本装置の導入は人為的ミスの危険が少ない点において有用である . また , 装置のオペレーションも Windows 対応であり操作性は AV に比べ優れていた . 特に , 結果がバッチ単位でボタン一つで容易に印字出来る事 , モノクロではあるが CCD カメラによる反応像も同時に印字するため , 目視判定と客観的に比較できる利点がある . さらに , この画像はオペレーション端末に保存され , 必要な時に簡単操作で照会できる . また , 高価な IgG カードと Enzyme カードでは , 6 セルの内未使用のセルについては , 別の検体の検査に無駄なく使用できる事から , 採算面においても考慮されている . しかし , バッチ

毎にカセットを挿入しなければならない事 , バッチ毎の検査が遠心操作まで進行しなければ検体を取り出せない事など , 運用で対応すべき点が上げられる .

## 2 . 血液型検査

190 検体の判定結果と凝集強度の一覧を Table 2 3 に示す .

## ( 1 ) ABO オモテ試験 ( Table 2 )

GS では B 型で抗 B 抗体との反応が 3+ の判定が 2 例あったが , 何れも微小凝集が若干量ゲル層上部に点在している程度であり , 目視判定では 4+ の凝集であった .

A 型と AB 型の移植後キメラ ( 他院で同種末梢血幹細胞移植後外科手術のため入院 , 移植後 71 日 , 最終輸血 MAP-2u より 60 日後 , 血球比率 : ドナー型 AB 約 91% 患者型 A 約 9% ) では , 抗 B との反応において dp ( double cell population ) と判定され , 部分凝集を正確に捉えていた ( Fig. 1 ) この部分凝集は試験管法でも確認できたが , AV では検出できず AB 型と誤判定された . 但し , AV の検査済カセットの目視判定では部分凝集を確認することができた .

これ以外の 187 検体については全て 4+ の凝集を示し良好な成績であった .

## ( 2 ) Rho ( D ) 式血液型 ( Table 2 )

Rho ( D ) 陽性 188 検体の抗 D との反応は全例 4+ と良好であり , Rho ( D ) 陰性 2 検体及びコントロールに異常反応は認められなかった .

Table 3 Results of reverse ABO typing

Blood Group	A <sub>1</sub> cell	B cell	ID-GelStation		AutoVue	
			number of samples	accumulated %	number of samples	accumulated %
Group A		4 +	55	74.3%	18	24.3%
		3 +	11	89.2%	45	85.1%
		2 + ( TT-3 + )	7	98.6%	10	98.6%
		1 + ( TT-2 + )	1	100%	1	100%
Group B	4 +		38	82.6%	19	41.3%
	3 +		7	97.8%	25	95.7%
	2 + ( TT-3 + )		1	100%	2	100%
Group O	4 +	4 +	49	100%	40	81.6%
	4 +	3 +			8	98.0%
	3 +	3 +			1	100%
Group AB			20	100%	20	100%
Chimera ( A + AB )			1	100%	1	100%
Total			190			190

( TT-2 + , 3 + : Standard Tube Test 2 + , 3 + )

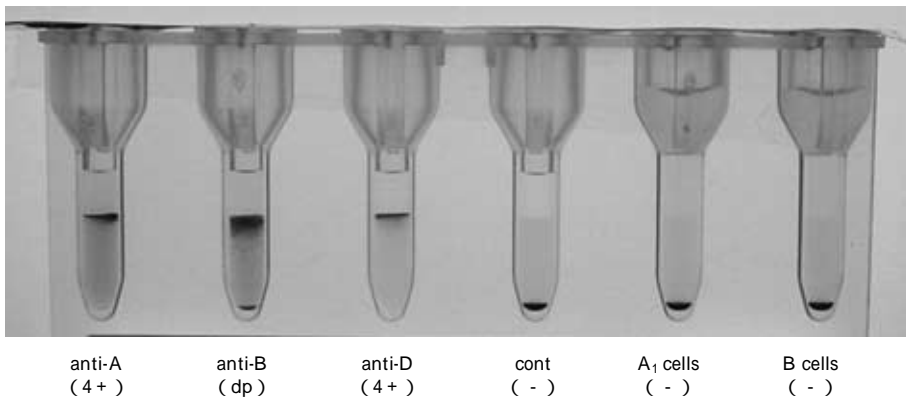


Fig. 1 Reaction of ID-GelStstion ABD card ( A and AB Chimera )

(3) ABO ウラ試験 ( Table 3 )

2+以下の凝集を示したA型8件、B型1件に確認検査が必要であった。2+を示したA型とB型計8件は試験管法では3+を示し異常所見は見られなかった。B血球に1+の凝集を示した検体は、亜型を疑い精査したがA型であった。この症例は79歳女性で腫瘍の骨転移患者であり、高齢や病状等の原因により抗B抗体価が低下したものと考えられた。

凝集強度の累積百分率で比較すると、A型のB血球との反応でGSは4+ 74.3%、3+ 89.2%に対しAVは4+ 24.3%、3+ 85.1%であった。ま

た、B型のA1血球との反応では4+ 82.6%、3+ 97.8%に対しAutoVueは4+ 41.3%、3+ 95.7%と明らかにGSはAVに比較して強い凝集を示した。このことは、当院の基準ではGSは、煩雑な確認検査の実施率を低下させることができ有用であると思われた。

3. 抗体スクリーニング検査

全71抗体の反応性ならびに各検査法における検出結果をTable 4に示す。反応性は酵素法のみ陽性、IATのみ陽性、酵素法陽性IAT陽性の3分類とし、酵素法、IAT共に各々3法のうち何れか1法でも検出された場合を陽性とした。

Table 4 Comparison of red cell antibody detection

specificity of antibody	number of samples	reaction character	detected samples	Standard tube test			ID-GelStation		AutoVue	
				Saline	Bromelin	PEG-IgG	Papain	IAT	Ficin	IAT
anti-C	3	Enzyme	1	0	1	0	1	0	1	0
		IAT	1	0	0	1	0	1	0	1
anti-c	4	Enz and IAT	1	0	1	0	1	1	1	0
		Enzyme	1	0	0	0	1	0	1	0
anti-D	3	Enz and IAT	3	0	1	3	3	1	3	1
anti-Di <sup>a</sup>	4	Enz and IAT	3	0	2	3	3	3	2	2
		IAT	1	0	0	1	0	1	0	1
anti-E	29	Enz and IAT	3	0	0	3	3	3	3	3
		Enzyme	9	0	6	0	8	0	9	0
anti-e	2	Enz and IAT	20	0	20	20	20	18	20	16
		IAT	1	0	0	1	0	1	0	1
anti-f	1	Enz and IAT	1	0	0	1	1	1	0	1
		Enzyme	1	0	1	0	1	0	1	0
anti-Fy <sup>b</sup>	8	IAT	8	0	0	8	0	4	0	4
anti-Jk <sup>a</sup>	3	IAT	2	0	0	2	0	0	0	0
		Enz and IAT	1	0	0	1	1	1	1	1
anti-Jk <sup>b</sup>	1	IAT	1	0	0	1	0	1	0	1
anti-Jr <sup>a</sup>	2	Enz and IAT	2	0	0	2	1	2	2	2
anti-Le <sup>a</sup>	9	Enzyme	7	0	2	0	4	0	7	0
		Enz and IAT	2	1	2	2	2	1	2	1
anti-Le <sup>b</sup>	2	Enz and IAT	2	1	2	2	2	1	2	1
Total	71	Enzyme	19	0	10	0	15	0	19	0
		IAT	14	0	0	14	0	8	0	9
		Enz and IAT	38	2	28	37	37	32	36	28

## (1) 酵素法陽性・IAT 陰性抗体

抗 C 1 例及び抗 f 1 件は酵素法 3 法全てに検出された。抗 c 1 例は BroI に検出されず、PapII と FicII で検出された。抗 E 9 例では、FicII では全て検出されたが、PapII では 1 例、BroI では 3 例が検出できなかった。抗 Le<sup>a</sup> 7 例では抗 E 同様 FicII では全例検出されたが、PapII では 3 例、BroI では 5 例検出できなかった。酵素法における検出感度は自動機器を使用した酵素 2 段法は BroI に比べ明らかに高感度であった。

## (2) IAT 陽性・酵素法陰性抗体

抗 C 1 例、抗 Di<sup>a</sup> 1 例、抗 e 1 例、抗 Jk<sup>b</sup> 1 例は、IAT 3 法全てに検出された。しかし、抗 Fy<sup>b</sup>、抗 Jk<sup>a</sup> の合計 10 例では、PEG-G では全例検出されたが、GS、AV では 4 例のみ検出され、6 例は検出できなかった。すべての方法に使用した同一ロットのパノスクリーンは Fy<sup>b</sup>、Jk<sup>a</sup> 抗原のホモ接合血球が組込まれており、PEG-G と比較して感度が低い原

因は使用したカセット試薬の特性によるものと考えられた。

## (3) 酵素法陽性・IAT 陽性抗体

抗 C 1 例では酵素法は 3 法とも陽性であり、IAT は GS のみが陽性であった。抗 c 3 例では試験管法では PEG-G は全例に BroI は 1 例のみ陽性であったが、GS と AV では逆に酵素法では全例、IAT では 1 例のみが陽性であった。抗 D 3 例では GS では 3 例とも PapII、IAT で検出された。BroI では 1 例、AV では FicII と IAT で各 1 例検出できなかった。抗 Di<sup>a</sup> 3 例では BroI では反応しなかったが、PapII と FicII では 3 例とも検出された。抗 E 20 例では、酵素法は全て検出されたが、IAT では GS で 2 例、AV で 4 例検出できなかった。抗 e 1 例では PapII でも反応した。抗 Jk<sup>a</sup> 1 例、抗 Jr<sup>a</sup> 2 例では IAT は全例陽性であり、各々 1 例は PapII でも検出された。抗 Le<sup>a</sup> 2 例、抗 Le<sup>b</sup> 2 例では、PEG-G では全例検出したが GS では生

食法に反応した2例はIATに反応しなかった。

#### IV 考 察

##### 1. 操作性

日当直を担当する輸血検査経験の浅い検査部技師の時間外輸血検査への要望は、誰が検査しても同じ結果が出せるという標準化と検査機器とのオンラインを含む操作性である。操作性に関しては、GSは検査システムとの双方向通信が標準装備され、オーダリング対応のバーコードラベルが張られた検体と必要な試薬カセットをセットすれば検査が開始でき操作は簡便である。また、検査結果の反応画像を印字・照会できるシステムは、経験の浅い技師にとって結果の客観性を得る優れた利点であると思われる。さらに、試薬はバーコード管理されており、血球の溶血、試薬の劣化とフィブリン析出など検体の問題を除けば、操作者間誤差の生じる可能性が低く標準化も容易であると思われた。

##### 2. 血液型検査

ABOオモテ試験ならびにRho(D)式血液型検査においては、試験管法やAVと同等の結果であった。しかし、吉田らの報告<sup>1)</sup>と同様にウラ試験は試験管法に比べ凝集が弱い傾向にあり、AVの190件中13件6.8%に比べ低率であるがGSでは9件4.7%に試験管法での確認検査が必要であった。亜型の精査を要した1件以外は試験管法3+であり異常所見は認められなかった事から、ウラ試験の凝集が弱い事は装置ならびに試薬カセットの特性であると考えられた。使用に際しては、正常域の判定基準を2+に下げる必要がある。部分凝集を呈した1例は試験管法と同等に検出でき良好な成績であったが、我々の検討では非凝集血球の率が7%程度までがGSの部分凝集判定限界であり、見落とし防止策として最終的には目視判定する必要がある。

##### 3. 抗体スクリーニング検査

酵素法の検出率は、GS PapIIは抗Le<sup>a</sup>においてAV FicIIに比べ低率であったが、臨床的意義のある抗体の中で日常最も高頻度に検出されるRh-hr式血液型抗体においては、FicII同様BroIに比べ高検出率であった。これらRh抗体のIATの検出

率はPEG-G陽性の抗c2例、抗E2例が検出出来なかったが、何れもPapIIでは検出されていた。また、PapIIではDiego式やKidd式、Jr式血液型抗体の検出事例もあり、より正確に抗体を検出するためにはPapIIとIATを併用する事が有用である。

現在の輸血検査において最も重要視されているIATの比較では、Rh抗体以外の臨床的意義有る抗体の検出率を比較すると、GSは抗Di<sup>a</sup>、抗Jk<sup>b</sup>、抗Jr<sup>a</sup>抗体ではAV、PEG-Gと同等の成績であった。しかし、PEG-G陽性の抗Fy<sup>b</sup>8例中4例、抗Jk<sup>a</sup>抗体3例中2例を検出できなかった。この結果は、ゲルカラム遠心凝集法はLissやアルブミンを用いた試験管法より感度が高いとした報告<sup>12)</sup>と異なり、抗Fyや抗Jk抗体ではPEGを用いた試験管法の感度が高いとした報告<sup>3)・7)</sup>と一致していた。これらの報告の違いは、重田ら<sup>8)</sup>のPEGと重合ウシアルブミン法の抗体価を比較した成績では、抗Fyや抗Jk抗体ではPEGの方が2-3管高いとする成績と合致する。このことから、反応増強剤にLISSを使用していることが、一部の抗体において検出感度が低い結果となった原因の1つと考えられた。この点を補うためには、より感度の高いPEG-Gを用いることも必要となる。メーカー側には、更に高感度な検査法の開発、改良を期待する次第である。

#### V 結 語

輸血の必要な患者様にとって、輸血により期待される効果とリスクは時間内でも時間外でも同様であることが理想であり、このことから当院の時間外交差試験は時間内ルチン検査に準じた試験管法を採用している。

当直業務は技師1名対応であり、緊急検体検査ならびに輸血業務に対応しなければならない。これらの検査に対する責任の所在は明確であり、加えて迅速供給を要求される交差試験は経験の浅い技師にとって強烈なストレスになっている。

輸血部には異常反応が出現した場合のバックアップは当然の事として、時間外検査においても正確かつ円滑な検査体制を構築する責務がある。しかし、経験の浅い技師が対応する時間外検査に

標準化と正確性のバランスを維持することは容易ではない。今回検討したGSは結果の誤入力防止策となる検査システムとのオンラインを含めた操作性に優れており、血液型検査、不規則抗体検査の標準化目的に時間外検査に導入することは有用であると考えられた。しかし、PEG-Gと比較してDuffy式ならびにKidd式血液型抗体の検出感度が低いことから、輸血の適否を最終的に判断するIAT交差試験の採用は慎重に検討する必要があり、課題として残された。

#### 文 献

- 1) 吉田久博, 他: Micro Typing System ゲル遠心法による輸血検査. 日輸血会誌, 40(1): 62-67, 1994.
- 2) Y. Lapierre, et al: The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion, 30(2), 109-113, 1990.
- 3) V. Weisbach, et al: Comparison of the performance of four microtube column agglutination system in the detection of red cell alloantibodies. Transfusion, 39, 1045-1050, 1999.
- 4) 森口洋子, 他: 輸血検査における Micro Typing System の検討. 医学検査, 48(6): 1022-1026, 1999.
- 5) 出村舞香, 他: Micro-Typing System 半自動機器の評価. 機器・試薬, 23(3): 225-234, 2000.
- 6) 寺岡敦子, 他: 不規則抗体検査における赤血球膜固相化法とカラム凝集法および試験管法との比較検討. 機器・試薬, 24(6): 369-374, 2001.
- 7) 菅野直子, 他: カラム凝集法による赤血球凝集反応. 医学検査, 49(6): 951-955, 2000.
- 8) 重田勝義, 他: ガンマーペグ(PeG)試薬を用いたポリエチレングリコール間接抗グロブリン試験の検討. 機器・試薬, 18(4): 761-767, 1993.