

全自動輸血検査システム ORTHO VISION™を使用した抗体価測定

加藤 千秋¹⁾ 渡邊 友美¹⁾ 遠藤比呂子¹⁾ 松下 正²⁾

抗 A, 抗 B 抗体価は, メジャーミスマッチ移植における生着において, 不規則抗体価は, 胎児新生児溶血性疾患の重症度予測において重要とされてきた. 従来, 抗体価測定は試験管法が用いられてきたが, 希釈系列作成時の誤差や, 凝集判定の個人差など, 標準化における問題点も存在した. 今回, カラム凝集法を用いた全自動輸血検査システムによる抗体価測定の自動化の有効性について検討した.

抗 A, 抗 B 抗体価測定の生理食塩液法は, 試験管法と比較し IgG 型優位のケースで高値に, IgM 型優位のケースで低値を示した. 一方, 間接抗グロブリン法は, 検体の還元処理・未処理 (DTT LISS-IAT・LISS-IAT) で非常に強い相関がみられた. 不規則抗体価では, LISS-IAT において IgM 型抗体を含むケースで高値を示し, IgM 型抗体による直接架橋が考えられた. DTT LISS-IAT では血液型システムの違いにより異なる傾向を示した.

以上より, 抗 A, 抗 B 抗体価における間接抗グロブリン法の自動化は可能と考えた. また, 不規則抗体価では血液型システムや, 免疫グロブリンクラスによる差異が生じる等, 引き続き検討が必要と考えた.

キーワード: 抗体価, カラム凝集法 (CAT), 自動希釈機能, 全自動輸血検査システム, 間接抗グロブリン試験

はじめに

抗 A, 抗 B は, 通常 Landsteiner の法則に従って存在する. このため, メジャーミスマッチ臓器移植やメジャーミスマッチ造血幹細胞移植の場合, 抗 A, 抗 B 抗体価が問題となる^{1)~7)}. 特に高抗体価の場合, 生着率に影響を与えるため, 血漿交換等の効果判定や術後の経過観察として, 抗体価測定が必要となる. また, 妊婦における臨床的意義のある不規則抗体は, 胎児新生児溶血性疾患に関与するため, 不規則抗体価は, 胎児輸血や出産後の交換輸血の判断の一助となる^{8)~11)}.

従来, 抗体価測定の標準法は試験管法 (tube test: TT) とされてきたが, 希釈系列作成時の誤差や凝集判定における個人差など, 問題点もあった^{12)~14)}. 今回, カラム凝集法 (column agglutination technology: CAT) を用いた自動希釈機能があり, 客観的な凝集強度判定が可能な全自動輸血検査システムによる抗体価測定の自動化を検討したので報告する.

材料と方法

1 材料

1.1 検体

当院で 2014 年 1 月~2016 年 5 月に, 抗体価測定の依頼があった患者血漿を使用した.

1.2 試薬

オーソ®バイオビュー™リバーサクセット (以下リバーサクセット), オーソ®バイオビュー™抗 IgG カセット (以下抗 IgG カセット), オーソ®オートビュー®用 BLISS (以下 BLISS), オーソ®オートビュー®用アフーマジェン® (以下オートビュー®用アフーマジェン), オーソ®抗ヒト IgG 血清 (ウサギ) (以下抗ヒト IgG 血清), アフーマジェン® (以上オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社), クームスコントロール (弱) (株式会社カイノス), (±)-Dithiothreitol (以下 DTT) (和光純薬工業株式会社), 塩化ナトリウム (シグマアルドリッチジャパン合同会社), インスタント燐酸緩衝液 4 (株式会社 LSI メディエンス), 赤血球液-LR「日赤」および照射赤血球液-LR「日赤」のセグメントチューブ (日本赤十字社), Orange G (Chroma Gesellschaft Schmidt & Corporation), Polyethylene Glycol (片山化学株式会社)

1.3 測定機器

ORTHO VISION™ (以下 VISION), ORTHO™ WORKSTATION (以下 WS) (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社), THERMOLYNE DRI-BATH (Thermolyne Corporation), 日立自動血球洗浄遠心機 MC450 形 (日立工機株式会社), 免疫血液学用

1) 名古屋大学医学部附属病院医療技術部臨床検査部門

2) 名古屋大学医学部附属病院検査部・輸血部

〔受付日: 2016 年 11 月 9 日, 受理日: 2017 年 2 月 20 日〕

遠心機セロマチック IKA-2200(株式会社久保田製作所), 7011 形臨床検査用分光光度計(株式会社日立サイエンスシステムズ)

2 方法

2.1 カラム凝集法 (CAT)

VISION を使用し, 検体は OV 希釈トレイでリン酸緩衝生理食塩液 (PBS) による 2° 自動希釈を行い, 希釈サンプルを作成後, 各カラムに分注した. 赤血球試薬, 検体, BLISS の分注量と反応時間は以下で検討し決定した. 反応終了後の遠心は, 5 分間実施(フェーズ 1: $55 \pm 5 \times g$, フェーズ 2: $199 \pm 5 \times g$)し, 凝集強度が 1+ となる最終希釈倍数を抗体価として判定した. 抗原として使用する赤血球は, 抗 A, 抗 B 抗体価はオートビュー用アフーマジェンを, 不規則抗体価は赤血球液-LR のヘテロ接合体のセグメントチューブを 2 本以上プールして洗浄後, PBS で 3% に調製し使用した. DTT 処理検体は, 検体に同量の 0.01M DTT を添加し 37°C 30 分加温したものを, 2 倍希釈液として使用した.

2.2 試験管法 (TT)

検体は試験管で PBS を使用して 100 μ l で 2° 希釈系列を作製し, 各々の試験管に 3% 赤血球 50 μ l を分注, 室温 15 分インキュベーション後 1,000 $\times g$, 15 秒遠心し, 凝集強度を判定. 凝集強度が 1+ となる最終希釈倍数を生理食塩液法の抗体価とした. IAT は輸血・移植検査技術教本¹⁵⁾に従い, 生理食塩液法の判定後の試験管をそのまま 37°C 60 分インキュベーション後, 3 回洗浄し, 抗ヒト IgG 血清 2 滴を添加後混和, 速やかに 1,000 $\times g$, 15 秒遠心し, 凝集強度を判定. 凝集強度が 1+ となる最終希釈倍数を抗体価とした. 陰性の場合にはクームスコントロールを 1 滴加え混和後, 1,000 $\times g$, 15 秒遠心後凝集を確認した. 赤血球液は, 抗 A, 抗 B 抗体価にはアフーマジェンを使用し, 不規則抗体価には CAT と同じものを使用した. DTT 処理についても CAT と同様の方法で行った.

2.3 免疫グロブリンクラス判定

免疫グロブリンクラスの判定は, TT の結果を使用し, 輸血・移植検査技術教本¹⁵⁾に従い DTT 処理により IAT の低下がない場合を IgG 型, IAT が 2 倍未満の場合を IgM 型, IAT が検出かつ低下した場合を IgG + IgM 型とした.

本研究は名古屋大学医学部附属病院の疫学研究に関する倫理審査委員会の承認を得て実施した (受付番号 1038-3).

3 結果

3.1 希釈精度の評価

サンプルとしてオレンジ G を用い希釈精度を評価した. オレンジ G は 478nm において, 濃度と吸光度が比例するため, サンプル原液の吸光度から計算される期

待値と実測された吸光度から, 希釈精度が評価可能である. オレンジ G は 300mg を精製水 10ml で溶解後にろ過し, 血漿の粘性と類似させるため 16.2% ポリエチレングリコール溶液で 60 倍に希釈し, サンプル原液とした. VISION ではサンプル原液を検体として自動希釈後, 希釈トレイの各 Well から試験管に 100 μ l をサンプリングし, 精製水 1ml で希釈後, 分光光度計を使用して 478nm の吸光度を測定した.

VISION の 2° 希釈系列は, 期待吸光度が 0.010 以上を示した 2¹~2⁷まで期待値の 94~82% で, 1 管差となる 50% 以上であり, 良好な希釈精度が確認された.

TT においては, 試験管の 100 μ l の 2° 希釈系列を 1ml の精製水で希釈し, 2¹~2⁷まで期待値の 101~94% であり, 対照法として許容可能な誤差であった.

3.2 抗 A, 抗 B 抗体価生理食塩液法測定条件の設定

3.2.1 反応時間

リバースカセットを使用し, 検体 40 μ l, 赤血球 10 μ l とし, 室温で 2, 5, 10, 20 分における反応時間の違いを検討した. その結果, 同一希釈倍数で 2 分, 5 分で w+ であったものが, 10 分, 20 分で 1+ となった. 弱い反応に対して 5~15 分の反応時間の延長で増強効果があるとされていること¹⁶⁾, VISION の不規則抗体スクリーニングの反応時間が 10 分であること, 10 分で凝集強度が強くなったことから, 反応時間は 10 分とした.

3.2.2 検体量

リバースカセットを使用し, 赤血球 10 μ l, 反応時間室温 10 分, 検体量を 20, 40, 60 μ l とし, WS を使用して検体量の影響を検討した. その結果同一希釈倍数において, 20 μ l で w+, 40 μ l で 1+, 60 μ l で 2+ となり, 検体量が増加するに従い凝集強度は強くなったが, 赤血球・血漿比は 1:80 以上が望ましいとされ, オートビュー用アフーマジェンの赤血球濃度が 3.5 \pm 0.5% であることから, 赤血球量 0.35 \pm 0.05 μ l に対し少なくとも 32 μ l 以上が適切な量となる. また, CAT は 5% 濃度までの赤血球試薬を許容範囲とするため, 血漿量 40 μ l が妥当であると判断した.

3.3 LISS 添加間接抗グロブリン試験 (low ionic strength solution-indirect antiglobulin test : LISS-IAT) 測定条件の設定

3.3.1 反応時間

抗 IgG カセットを使用し, 検体 40 μ l, BLISS 50 μ l, 赤血球 10 μ l とし, 37°C で 10, 15, 20, 30, 60 分における反応時間の違いを検討した. その結果, 10, 15, 20 分で 1+ であったものが, 30, 60 分で w+ となった. VISION の不規則抗体スクリーニングの反応時間が 10 分であること, 時間の過度の延長は結合した抗体の解離につながることを¹⁶⁾, LISS 添加により反応時間は 10~15 分に短縮可能であることから¹⁷⁾¹⁸⁾, 10 分が妥当と考

表1 反応条件

	生理食塩液法	LISS-IAT	DTT LISS-IAT
カラム	Reverse カセット	抗IgG カセット	抗IgG カセット
BLISS		50μl	50μl
Sample	40μl	40μl	40μl
血球	10μl	10μl	10μl
反応時間	室温 10分	加温 10分	加温 10分

生理食塩液法	試験管法									
	1>	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸
カラム凝集法	1>	×●×●	★							
	2 ⁰		● ▲							
	2 ¹		● ▲	● ★						
	2 ²			●▲▲▲	▲					
	2 ³		●		●▲ ▲▲	▲				
	2 ⁴				●	▲★	▲▲	★		
	2 ⁵				●	●	▲▲			
	2 ⁶							▲ ●▲		
	2 ⁷					●				
	2 ⁸								▲	▲

図1 抗A, 抗B抗体価相関図 (生理食塩液法)
 抗A : n=21, 抗B : n=17
 グロブリンクラスは試験管法で判断
 Neg (×), IgG (●), IgM (★), IgG+IgM (▲)

えた。

3.3.2 検体量と BLISS 量

抗IgGカセットを使用し, 赤血球 10μl, BLISS 50 μl, 反応時間は 37°C 15分 (VISION 10分相当) とし, 検体量 30, 40, 50, 60μl で, WS を使用して検体量の影響を検討した。その結果, 30μl で w+, 40 と 50μl で 1+, 60μl で 2+ となり, 検体量が増加するに従い凝集強度は強くなったが, 生理食塩液法と同様, 赤血球との適切なバランスを考慮し血漿量は 40μl が妥当とした。

また, 抗IgGカセットを使用し, 赤血球 10μl, 検体 40μl, 反応時間 37°C 15分 (VISION 10分相当) とし, BLISS 量 25, 50, 75, 100μl で, WS を使用して BLISS 量の影響を検討した。その結果, BLISS 量に関わらず, 凝集強度に変化はなかった。BLISS 量は赤血球浮遊液量と血漿量の総量より少ない場合感度の低下が, 多い場合は非特異反応が増加する傾向にある¹⁸⁾¹⁹⁾。BLISS 量はメーカー指定の添加量に従うことで最適なイオン強度 0.09M に近くなり, 赤血球浮遊液量 10μl と血漿量 40μl に対し BLISS 50μl とし, イオン強度は 0.094M となった。

以上の検討より表1に示す反応条件において以下の検討を行った。

生理食塩液法	試験管法									
	1>	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸
カラム凝集法	1>	★●★●	●							
	2 ⁰		▲ ★							
	2 ¹		★ ★	● ●						
	2 ²				★▲▲●	▲				
	2 ³			★		★● ▲▲	▲			
	2 ⁴					★		▲● ▲▲●		
	2 ⁵					★		★ ▲●		
	2 ⁶								▲ ★★	
	2 ⁷							★		
	2 ⁸								★	▲

図2 抗A, 抗B抗体価相関図 (生理食塩液法)
 抗A : n=21, 抗B : n=17
 A型 (●), B型 (▲), O型 (★)

3.4 同時再現性

患者プール血漿を使用し, 抗A, 抗Bの低抗体価と高抗体価の4件を生理食塩液法とLISS-IATでそれぞれ連続5回測定した。その結果, 全ての測定において5回同一または1管差に収束した。

3.5 抗A, 抗B抗体価の相関

3.5.1 生理食塩液法

TTとCATにおいて抗A21件, 抗B17件で相関関係を検討した。図1はTTの結果から予測されたグロブリンクラス別で, 図2は血液型別に示した。その結果, TTに比較しCATは, IgG型で高力価にIgM型で低力価となる傾向が見られた。血液型別では, 通常IgG型の抗ABを保有するとされるO型で高力価になる傾向を示し, A型, B型とは異なる傾向であった。原因として, 凝集塊形成における抗体の親和性と判定方法の違いによるものが考えられた。TTは遠心力により凝集塊を形成させ, 試験管を揺り動かして凝集強度を判定するため, 親和度の低いIgM型抗体でも, 凝集塊のほぐれ具合から凝集の検出が可能である。一方, IgG型は抗体サイズの関係から直接架橋に関与しにくい²³⁾。抗体量が多い場合には凝集が生じる^{20)~22)}。他方, CATはフェーズ1の遠心中に生じた凝集塊を, フェーズ2の遠心でカラムにより篩い分ける^{23)~25)}。そのため, 自然抗体とされる親和性の低いIgM型抗体は, 一旦生じた凝集塊がほぐれカラム管底に沈降する傾向が現れる。加えて, リバースカセットを用いるCATにはPolyethylene glycol (PEG) が含まれており, PEGによる凝集塊形成効果は, 抗体の親和性の高いIgG型でより高くなる²³⁾。このように, TTとCATではIgG型とIgM型抗体による凝集塊形成に差異があるために乖離が生じたと考える。

3.5.2 LISS-IAT

TTのIATとCATのLISS-IATにおいて抗A21

LISS-IAT	試験管法										
	1>	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸	
カラム凝集法	1>	××	★								
	2 ⁰										
	2 ¹		●	●●★							
	2 ²			▲▲▲▲	▲						
	2 ³			▲	●▲▲▲★	▲					
	2 ⁴					●	●▲▲▲★				
	2 ⁵							●▲			
	2 ⁶								▲	●●▲	
	2 ⁷									●●	●▲
2 ⁸										▲	

図3 抗A, 抗B抗体価相関図 (LISS-IAT)
 抗A : n=21, 抗B : n=17
 グロブリンクラスは試験管法で判断
 Neg (×), IgG (●), IgM (★), IgG+IgM (▲)

DTT LISS-IAT	試験管法									
	2>	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸	
カラム凝集法	2>	××★	▲▲							
	2 ¹	★	●▲▲▲	●●						
	2 ²		▲▲	▲	▲					
	2 ³			▲▲	●●	▲				
	2 ⁴				▲▲	●▲				
	2 ⁵						●	●		
	2 ⁶							▲	●●	
	2 ⁷								●●	
	2 ⁸									●

図4 抗A, 抗B抗体価相関図 (DTT LISS-IAT)
 抗A : n=21, 抗B : n=17
 グロブリンクラスは試験管法で判断
 Neg (×), IgG (●), IgM (★), IgG+IgM (▲)

件, 抗B17件の相関関係を図3に示した. その結果 TT と CAT はほぼ1管差の範囲内であるが, 60.5% (23/38) でCATがTTより低抗体価となった. LISS-IATではIgG型とIgM型の両者を測定することになるが, TTではIgM型の抗体による影響が強めとなることから, TTに比較しCATで低抗体価の傾向があったと考える.

3.5.3 DTT LISS-IAT

DTT処理したTTのIATとCATのLISS-IATにおいて抗A21件, 抗B17件で測定した相関関係を図4に示した. その結果, TTとCATの結果の差異はすべて1管差の範囲内であり, 良好な相関関係が得られた. DTTで還元処理を行ったことで, IgM型の影響を除き主にIgG型を測定することで, TTとCATで同等の抗体価が得られた.

3.6 不規則抗体価の相関

3.6.1 LISS-IAT

TTのIATとCATのLISS-IATにおいてRh系抗体

LISS-IAT	試験管法										
	1>	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁹
カラム凝集法	1>	×××	●								
	2 ⁰	× (抗Jk ^a)	●								
	2 ¹	× (抗Fy ^b)		● (抗Jk ^a)							
	2 ²	× (抗M)			● (抗Jr ^a)	● (抗D ⁱ)					
	2 ³					▲ (抗D ⁱ)					
	2 ⁴			★ (抗E)		●					
	2 ⁵						●●	●			
	2 ⁶							●		▲ (抗Jr ^a)	
	2 ⁷										
	2 ⁸									●	
2 ⁹										●	

図5 不規則抗体価相関図 (LISS-IAT)
 Rh系 : n=15, その他 : n=8
 グロブリンクラスは試験管法で判断
 Neg (×), IgG (●), IgM (★), IgG+IgM (▲)

DTT LISS-IAT	試験管法									
	2>	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁹
カラム凝集法	2>	××××●★								
	2 ¹	▲ (抗D ⁱ)	● (抗Jk ^a)	● (抗Jr ^a)						
	2 ²									
	2 ³				▲ (抗D ⁱ)	●				
	2 ⁴					●				
	2 ⁵						●●	▲ (抗Jr ^a)		
	2 ⁶							●●		
	2 ⁷									
	2 ⁸									●
	2 ⁹									

図6 不規則抗体価相関図 (DTT LISS-IAT)
 Rh系 : n=15, その他 : n=8
 グロブリンクラスは試験管法で判断
 Neg (×), IgG (●), IgM (★), IgG+IgM (▲)

15件, 抗Fy^b1件, 抗Jk^a2件, 抗Dⁱ2件, 抗Jr^a2件, 抗M1件で測定した相関関係を図5に示した. その結果, TTとCATは, 抗Eと抗Mの各1件以外は1管差の範囲内であった. TTに比較しCATで高抗体価となった抗Eと抗MはIgM型であり, 抗MはTTでは陰性であった. これは糖鎖抗原であるABOと異なり, ペプチド抗原であるRh/MNにおいては, IgM型抗体によるカラム内の直接架橋が発生し, 凝集塊を形成したと考えられる¹⁶⁾.

3.6.2 DTT LISS-IAT

DTT処理したTTのIATとCATのLISS-IATにおいてRh系抗体15件, 抗Fy^b1件, 抗Jk^a2件, 抗Dⁱ2件, 抗Jr^a2件, 抗M1件の相関関係を図6に示した. その結果, TTとCATは, すべて1管差の範囲内であったが, Rh系抗体はTTに比較しCATで高抗体価の傾向, 抗Jr^aで低抗体価の傾向があった. 抗Jr^aは高抗体価低凝集力 (high titer-low avidity : HTLA) の抗体であり, 凝集力 (親和性) に起因するTTとCATの凝集塊形成

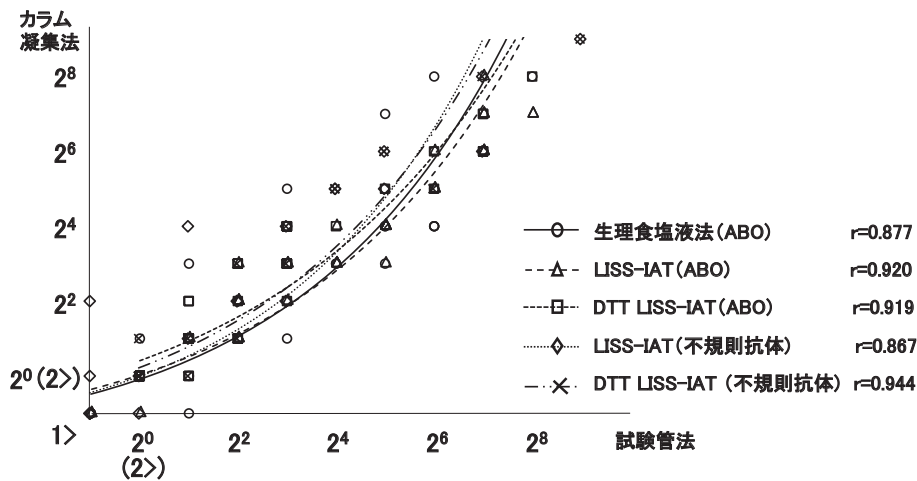


図7 相関図

原理の違いが影響したと考える¹⁶⁾²¹⁾²⁶⁾。また、LISS-IATにおいて乖離が確認された抗Eと抗Mは1管差に収束し、IgGの評価にはIgMの影響を回避するためにDTT等の還元処理が必須であった²⁷⁾。

3.7 相関係数

TTとCATによる抗A、抗B抗体価と不規則抗体価の相関図を図7に示し、指数近似による相関係数rを求めた。生理食塩液法による抗A、抗BとLISS-IATによる不規則抗体価では、rはそれぞれ0.877、0.867であり強い相関関係が認められた。また、LISS-IATとDTT LISS-IATによる抗A、抗B抗体価と、DTT LISS-IATによる不規則抗体価では、rはそれぞれ0.920、0.919、0.944と非常に強い相関関係が認められ、CATを用いた自動化は可能と考えた。

4 結論

今回我々は、希釈系列作成誤差のない自動希釈機能を持ち、客観的な凝集強度判定が可能な全自動輸血検査システムを使用したCATによる抗体価測定の自動化を検討した。

抗A、抗B抗体価測定の生理食塩液法では、IgG型とIgM型抗体による凝集塊形成の差異により、CATにおいてIgG型で高抗体価に、IgM型で低抗体価になる傾向があり、TTとの相関には乖離が見られた。LISS-IATとDTT LISS-IATではTTとCATで非常に強い相関関係があった。

不規則抗体価では、LISS-IATではIgM型でCATが高い抗体価となり、IgMによるカラム内の直接架橋が考えられた¹⁶⁾。DTT LISS-IATでは、血液型システムの違いにより異なる傾向を示した²⁶⁾。

以上より、抗A、抗B抗体価におけるLISS-IAT、DTT LISS-IATの自動化は可能と考えた。また、不規則抗体価では血液型システムにより異なる傾向があること、

LISS-IATでIgM型でTTと大きな乖離が生じることがあるため、臨床的意義の高いIgG型抗体の力価を適切に測定する意味で、還元処理による測定を必ず行う注意が必要と考えた⁹⁾²⁷⁾。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文献

- 1) Kazaki K, Kasahara M, Oike F, et al: Apheresis therapy for living-donor liver transplantation. *Ther Apher*, 6: 478—483, 2002.
- 2) 阿達竜介, 小山 勇, 秋元尚枝: 腎組織における血液型抗原の特性に関する研究. *日本外科系連合学会誌*, 26: 256—260, 2001.
- 3) 江川裕人, 尾形 哲, 山本雅一, 他: Rituximab投与とABO血液型不適合生体肝移植における安全性と有効性に関する後方視的調査研究. *移植*, 50: 62—77, 2015.
- 4) 石川雅巳, 安保佳苗, 鈴木理恵, 他: ABO不適合生体腎移植後に血管型拒絶が疑われたが8回の血漿交換で治療し得た1症例. *日集中医誌*, 10: 33—37, 2003.
- 5) 中谷達也: 腎移植を受けるための条件. *透析会誌*, 41: 103—109, 2008.
- 6) 高橋公太: ABO血液型不適合腎移植. *Organ Biology*, 18: 11—32, 2011.
- 7) 白水俱弘: 血液型と腎移植. *透析会誌*, 25: 1187—1190, 1992.
- 8) 稲岡千佳子, 矢原 健, 安井昌博: 当センターにおける不規則抗体陽性妊婦と出生児溶血性疾患についての考察. *日本輸血細胞治療学会誌*, 59: 486—491, 2013.
- 9) 堤 紀夫, 伊藤治英, 田中忠夫, 他: 免疫からみた妊娠の諸問題. *医療*, 4: 822—825, 1987.

- 10) 浮田昌彦, 山田紀子, 森分智子, 他: 妊産婦の Type & Screen と新生児溶血性疾患. 日本輸血学会雑誌, 33: 728—735, 1987.
- 11) 船戸正久: 新生児溶血性疾患の病態と治療. 日本輸血学会雑誌, 47: 837—844, 2002.
- 12) Kobayashi T, Saito K: A series of surveys on assay for anti-A/B antibody by Japanese ABO-incompatible Transplantation Committee. *Xenotransplantation*, 13: 136—140, 2006.
- 13) 細川美香, 大西修司, 阿部 操, 他: 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. 日本輸血学会雑誌, 47: 384—389, 2001.
- 14) AuBuchon JP, de Wildt-Eggen J, Dumont LJ: Reducing the variation in performance of antibody titrations. *Arch Pathol Lab Med*, 132: 1194—1200, 2008.
- 15) 日高陽子: 抗体価測定, 編者 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会, 輸血・移植検査技術教本, 丸善出版, 東京都, 2016, 77—79.
- 16) Roback JD, Grossman BJ, Harris T, et al: Technical manual, 17th ed, American Association of Blood Banks, Maryland, 2011.
- 17) 日本輸血・細胞治療学会: 指針/ガイドライン. <http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/themes/jstmct/images/medical/file/guidelines/GuideLine3.pdf> (2016年10月現在)
- 18) Low B, Messeter L: Antigloblin test in low-ionic strength salt solution for rapid antibody screening and cross-matching. *Vox Sang*, 26: 53—61, 1974.
- 19) Moore HC, Mollison PL: Use of a low-ionic-strength medium in manual tests for antibody detection. *Transfusion*, 16: 291—296, 1976.
- 20) 万木紀美子, 木村晋也, 芦原英司, 他: 表面プラズモン共鳴原理を応用した IgG 型抗 A, 抗 B 抗体価測定. 日本輸血細胞治療学会誌, 54: 411—418, 2008.
- 21) 松橋 直: 液性免疫と細胞性免疫. *医療*, 32: 1367—1377, 1978.
- 22) 石森崇平: ABO 式血液型抗体の多様性に関する研究 II. DEAE Cellulose column chromatography による各成分の性状. 日本輸血学会雑誌, 21: 64—72, 1975.
- 23) 日高陽子, 川田典子, 奥田 誠, 他: カラム凝集法による ABO 血液型うら試験弱反応検体の解析. 日本輸血学会雑誌, 51: 565—570, 2005.
- 24) Reis KJ, Chachowski R, Cupido A, et al: Column agglutination technology: the antiglobulin test. *Transfusion*, 33: 639—643, 1993.
- 25) 管野直子, 小幡 隆, 小野崎文子, 他: カラム凝集法による赤血球凝集反応. *医学検査*, 49: 951—955, 2000.
- 26) 佐々木正照, 山田美加子, 金子礼子, 他: 各種検査法における赤血球 IgG 性同種抗体の検出感度の検討. 日本輸血学会雑誌, 49: 640—645, 2003.
- 27) 山田真里江, 山田尚友, 久保田寧, 他: 抗 M (IgM+IgG) において抗体価測定時に反応増強剤無添加間接抗グロブリン試験で一部陰性を示した妊婦の 1 例. 日本輸血細胞治療学会誌, 60: 32—37, 2014.

TITRATION BY THE FULLY AUTOMATED PRE-TRANSFUSION TESTING SYSTEM ORTHO VISION™ ANALYZER

Chiaki Kato¹⁾, Tomomi Watanabe¹⁾, Hiroko Endo¹⁾ and Tadashi Matsushita²⁾

¹⁾Department of Medical Technique, Nagoya University Hospital

²⁾Department of Clinical Laboratory and Department of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital

Abstract:

Measurement of the ABO antibody titers in an ABO-incompatible transplant and the unexpected antibody titers in hemolytic disease of the fetus and newborn are critical for clinical management.

Conventionally, antibody titers have been measured by a test tube method. However, there are many problems associated with this method, including errors at sample preparation and individual differences in the detection of agglutination. We evaluated the effectiveness of a fully automated pre-transfusion testing system using CAT for antibody titration.

ABO titers measured by the saline method using CAT were high for IgG and low for IgM antibodies compared with a tube test. A discrepancy was observed between the 2 methods. Measurement by the indirect antiglobulin method produced good correlation between the methods.

In unexpected antibody titers, CAT showed a high titer of IgM type antibodies in LISS-IAT. It was predicted that this may be due to direct agglutination between IgM antibodies. LISS-IAT using DTT treatment samples showed a different tendency depending on the blood type system.

Our results indicate that the automated IAT method is comparable to the test tube method for determining ABO titers and extra examination is necessary for unexpected antibody titers.

Keywords:

Titer, Column agglutination technology (CAT), Automatic serial dilution, Fully automated pre-transfusion test system, Indirect antiglobulin test