

直接抗グロブリン試験の標準化

～香川県精度管理委員会輸血部門の取り組み～

鬼松 幸子¹⁾ 平岡希実子²⁾ 渡邊 良³⁾ 細川 早織⁴⁾ 山地 瑞穂⁵⁾
宮川 朱美⁶⁾

香川県臨床検査技師会は香川県から委託を受け外部精度管理調査を実施している。直接抗グロブリン試験(direct antiglobulin test : DAT)については、県内複数施設からの要望で、検査の標準化・統一化を図る目的で調査項目としている。今回の報告は県内 29 施設を対象とした 2021 年度と 2022 年度の調査となる。香川県では調査試料における各施設の検査結果を評価するとともに、使用試薬などの検査体制についても調査している。調査により香川県下では抗 IgG 試薬単独で DAT を判定している施設があることが判明した。抗 IgG 試薬単独での検査は、補体感作の有無が検査できておらず、DAT として不十分である。2021 年度、抗 IgG 試薬単独施設は補体のみ陽性の調査試料を「陰性」と判定し不正解評価となった。これを機に DAT の臨床的意義が理解され、当調査が参加施設における検査体制の是正に効果的であった。

キーワード：直接抗グロブリン試験，外部精度管理調査，補体感作

はじめに

直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) は生体内において患者赤血球に結合している免疫グロブリンや補体成分の有無を証明する検査である。通常 DAT は何らかの溶血を疑う臨床所見が認められ、原因として免疫学的機序が考えられる場合に検査される。具体的には自己免疫性溶血性貧血 (autoimmune hemolytic anemia : AIHA) や溶血性輸血反応 (hemolytic transfusion reaction : HTR), 胎児新生児溶血性疾患 (hemolytic disease of the fetus and newborn : HDFN), 薬剤起因性免疫性溶血性貧血 (drug-induced immune hemolytic anemia : DIIHA) などの疾患が疑われる場合である¹⁾。

通常の検査手順は、まずは多特異性抗グロブリン試薬と生理食塩液による検査を行い、多特異性抗グロブリン試薬で陽性、生理食塩液で陰性であれば単特異性試薬 (抗 IgG, 抗補体試薬) および生理食塩液を用いて検査し、赤血球に結合しているのが IgG なのか補体成

分なのか特異性を決定する²⁾。

一般社団法人香川県臨床検査技師会 (香臨技) は香川県医師会の協力のもと香川県から委託を受け外部精度管理調査を実施している。輸血検査に関しては、血液型および不規則抗体検査を調査項目としていたが、県内の複数施設からの要望として「他の主要な外部精度管理調査において DAT の項目が設けられていないため、DAT も調査対象項目に設定してほしい」「カラム凝集法での自動化を検討したいが他施設の検査状況や試験管法との反応強度差を知る機会がほしい」など意見があったことから、DAT を調査項目に追加することとした。まずは評価対象外項目として調査を開始し、3 年間の試行期間後正式な調査項目とした。

今回、外部精度管理調査が DAT における検査体制の是正および標準化に効果的であったので報告する。

- 1) 社医) 大樹会総合病院回生病院臨床検査部
- 2) 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター臨床検査科
- 3) 独立行政法人労働者健康安全機構香川労災病院中央検査部
- 4) 高松赤十字病院検査部
- 5) 三豊総合病院中央検査部
- 6) キナシ大林病院検査科

連絡責任者：鬼松 幸子，E-mail : kensa@kaisei.or.jp

〔受付日：2023 年 8 月 14 日，受理日：2023 年 11 月 16 日〕

表1 香川県精度管理調査における直接抗グロブリン試験の評価基準

評価	解釈	内容
A	正解	判定に誤りがない
B	許容正解	設定なし
C	不正解	試験管法で陰性の場合、クームスコントロールを実施していない 陰性対照を実施していない
D	不正解	判定に誤りがある
評価外		上記に該当しない

対 象

1. 調査期間

外部精度管理調査として正式な調査項目とした2021年度と2022年度を対象とした。

2. 対象施設

県内の医療機関および検査センター（2021年度88施設、2022年度92施設のうち、DATに関する調査は、2021年度および2022年度参加申込施設29施設、間接抗グロブリン試験については2022年度33施設を対象とした）

3. 調査項目

- ・調査用試料を用いたDATの実施
- ・試薬種別と検査方法に関するアンケート調査

調査用試料

1) 2021年度

試料①：輸血検査精度管理用試薬 IH-QC7：IgG 感作血球（バイオ・ラッド社）

試料②：輸血検査精度管理用試薬 IH-QC8：C3b（c/d）結合血球（バイオ・ラッド社）

試料①と②はバイオ・ラッド社 ID-System における用手法および機器用コントロールであるため実務委員4名で調査試料としての適正性を事前検証した。事前検査（試験管法）の結果を下記に示す。

試料①：多特異性抗グロブリン試薬(1+)～(2+)、抗IgG試薬(1+)～(2+)、抗補体試薬(0)

試料②：多特異性抗グロブリン試薬(1+)～(2+)、抗IgG試薬(0)、抗C3b+C3d試薬(1+)～(2+)、抗C3d試薬(w+)～(1+)

2) 2022年度

試料①：チェックセル弱：IgG 感作血球(イムコア社)

試料②：日本赤十字社譲渡血液から調整したDAT陰性検体

事前に実務委員が試験管法にて確認した結果、試料①の多特異性抗グロブリン試薬と抗IgG試薬は(2+)、抗補体試薬は(0)、試料②は陰性であった。

方 法

1. 検査方法の調査と判定結果の評価

参加施設には、検査方法と自施設使用試薬での反応強度および判定結果の回答を求め、表1に示す評価基準に準じて評価した。なお、反応強度はデータのみ報告とし評価の対象とはしていない。

2. 試薬種別の集計と解析

- ・DATの試薬種について、病床数別に集計を行った。
- ・使用試薬に関しては、間接抗グロブリン試験に使用している反応増強剤の影響も鑑み、間接抗グロブリン試験の検査方法と反応増強剤種別の集計も行った。
- ・2021年度から2022年度にかけての試薬種別と参加の変動を確認した。

3. 調査後の活動

①助言活動

精度管理調査申込時に、助言希望の有無を確認し、希望「有」の施設のうち助言が必要と判断した施設に対し、助言を行った。

②県主催の精度管理研修会での報告

結 果

1. 検査方法の調査と判定結果の評価

検査法、試薬種別ごとの反応強度の回答結果を表2および表3に、評価結果を表4に示す。検査法について、カラム凝集法（用手法）のみでの実施が2021年度は2施設、2022年度は3施設あった。試験管法で回答している施設のうち2施設は、日常業務では、まずは自動測定機器（カラム凝集法）で検査し、陽性の場合には試験管法で再検・精査する運用をとっていた。検査方法は、試験管法が29施設中2021年度は27施設、2022年度は26施設あり、県内では試験管法が主流であった。

2021年度に試料①および試料②にて「陰性」と誤判定した施設（試料①：2施設、試料②：5施設）はD評価とした。試料②の5施設は、試験管法にて抗IgG試薬のみで検査していた。2022年度に試料①と②にて陰性対照未実施だった1施設はC評価とした。

2022年度に試料②にて「判定不能」と回答した施設が1施設あった。当該施設は、抗IgG試薬との反応および陰性対照は「0」、IgG感作血球は「+」で「陰性」の結果を導き出していたが、補体感作の有無が検査できていないため、判定を「判定不能」としていた。検査結果は正答しており今回はA評価としたが、次回からは「評価外」とすることとした。

反応強度は、2021年度の試料①試験管法による多特異性抗グロブリン試薬との反応では、(1+)～(2+)と回答した施設は16施設であったが、1施設だけ(4+)と乖離が見られた。試料②試験管法による抗補体試薬との反応は(w+)～(3+)とバラツキが見られた。

表2 2021年度 精度管理調査結果～検査法, 試薬種別ごとの反応強度～

試料 番号	検査法		試薬種別	反応強度					未実施	
				4+	3+	2+	1+	w+		0
試料①	試験管法	27施設	多特異性抗グロブリン試薬 (19施設)	1		11	5		2	
			抗IgG試薬 (24施設)		1	14	7		2	
			抗補体試薬 (13施設)						13	
			陰性対照						27	
試料②	凝集法	2施設	多特異性抗グロブリン試薬 (2施設)		2					
			抗IgG試薬 (0施設)						2	
試料②	試験管法	27施設	多特異性抗グロブリン試薬 (19施設)		5	10	4		24※	
			抗IgG試薬 (24施設)						27	
			抗補体試薬 (13施設)		1	7	4	1		
			陰性対照						27	
試料②	凝集法	2施設	多特異性抗グロブリン試薬 (2施設)		2					
			抗IgG試薬 (0施設)						2	

※内5施設は抗IgG試薬単独で検査を行っている。

表3 2022年度 精度管理調査結果～検査法, 試薬種別ごとの反応強度～

試料 番号	検査法		試薬種別	反応強度					未実施
				4+	3+	2+	1+	w+	
試料①	試験管法	26施設	多特異性抗グロブリン試薬 (22施設)	5	10	7			
			抗IgG試薬 (24施設)	6	11	7			
			抗補体試薬 (13施設)						13
			陰性対照						25
試料②	凝集法	3施設	多特異性抗グロブリン試薬 (2施設)	2					
			抗IgG試薬 (1施設)	1					3
試料②	試験管法	26施設	多特異性抗グロブリン試薬 (22施設)						22
			抗IgG試薬 (20施設※)						20
			抗補体試薬 (9施設※)						9
			陰性対照						25
試料②	凝集法	3施設	多特異性抗グロブリン試薬 (2施設)						2
			抗IgG試薬 (1施設)						1
			陰性対照						3

※4施設は多特異性抗グロブリン試薬で陰性のため単特異性試薬 (抗IgGまたは抗補体試薬) での検査は未実施。

表4 2021年度, 2022年度 精度管理調査～評価結果～

評価	2021年度		2022年度	
	試料①	試料②	試料①	試料②
A	27	24	28	28※
B	0	0	0	0
C	0	0	1	1
D	2	5	0	0
評価外	0	0	0	0

※「判定不能」とした1施設を含む

2022年度の各施設間における反応強度差は, 2021年度のように大きく乖離する施設はなく, 概ね収束された結果が得られた。なお, 試験管法と比較しカラム凝集法の反応強度は, 同等もしくは強い傾向にあった。

2022年度の試料②陰性検体について, 4施設は試験

管法にて多特異性抗グロブリン試薬で陰性であったため, 単特異性試薬での検査を実施していなかった。

2. 試薬種別の集計と解析

試薬種別と病床数との関連を図1に示す。試薬状況について, 単独試薬の施設は2021年度が全体の34% (10施設/29施設中) から2022年度が24% (7/29) に減少していた。

2022年度における間接抗グロブリン試験の検査方法と反応増強剤種別施設数を図2に示す。間接抗グロブリン試験でPEG法を導入している施設が全体で70% (23/33) あり, 試験管法だけみると88% (23/26) であった。

2021年度から2022年度にかけての試薬種別と参加の変動を表5に示す。2021年度に抗IgG試薬のみで検査

施設数

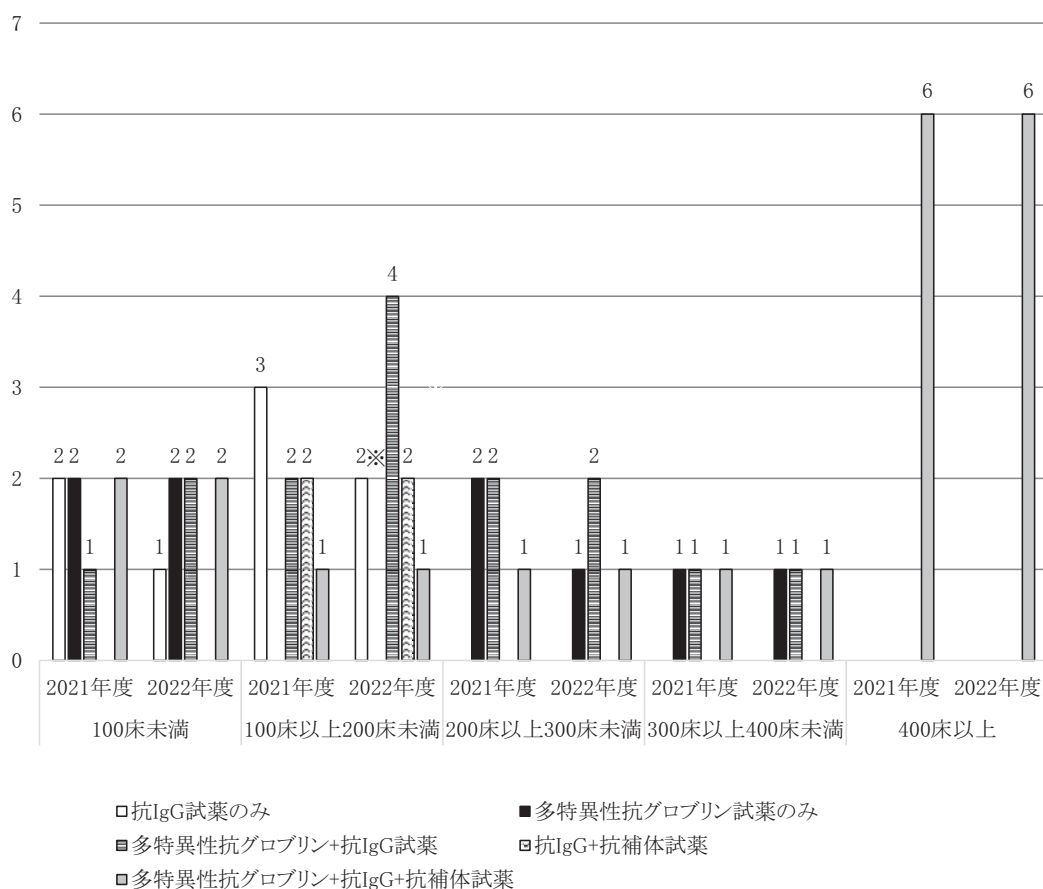


図1 2021年度と2022年度の病床数別で集計した試薬種別 (100床未満に検査センター1施設を含む)
※内1施設は2023年度に多特異性抗グロブリン試薬を導入検討中

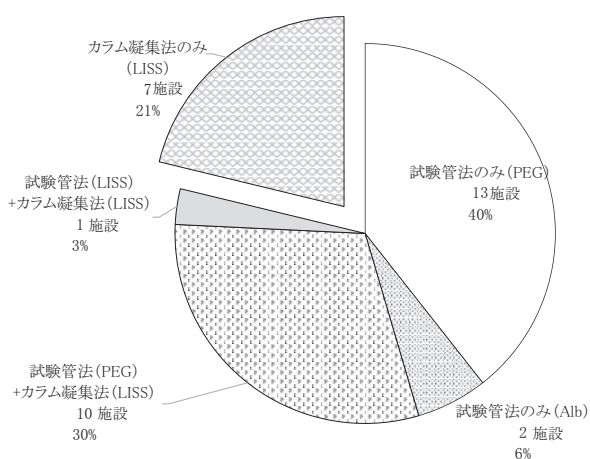


図2 間接抗グロブリン試験の検査方法と反応増強剤種別施設数 (2022年度 香川県精度管理調査結果より)

していた5施設 (全て試験管法) はいずれも200床未満の施設で、そのうち3施設は2022年度の調査時には多特異性抗グロブリン試薬を導入、1施設は、2023年度中に多特異性抗グロブリン試薬の導入を検討していた。2022年度から新規参加の1施設 (カラム凝集法

表5 2021年度から2022年度にかけての試薬種別と参加の変動

2021年度	2022年度	施設数
抗IgG試薬のみ	多特異性抗グロブリン試薬 + 抗IgG試薬	3 (1)
多特異性抗グロブリン試薬のみ	不参加	1
不参加	抗IgG試薬のみ	1

() 内は多特異性抗グロブリン試薬を導入検討中の施設数

用手法)は抗IgG試薬のみで検査を実施していた。

3. 調査後の活動

①助言活動

小規模施設からは、検査件数が少なく試薬を揃えることが困難であること、試薬に対する情報が得られず購入に至っていないことなど、悩みや相談があった。試薬の購入は施設の問題でもあり強要はできないが、自施設で所有している試薬の正しい使用法と結果の意義を理解し臨床的に誤った判断がなされないよう、報告に際し注意すべきことについて助言した。

②県主催の精度管理研修会での報告

2021年度の精度管理調査で、DATの判定を抗IgG試薬単独で行っている施設があることが判明したことにより、精度管理研修会にて多特異抗グロブリン試薬あるいは抗IgG試薬と抗補体試薬の組み合わせで検査を行い報告するよう周知を行った結果、抗IgG試薬のみで検査を行っていた5施設中4施設において検査体制が是正された。

考 察

DATが陽性となる代表的な疾患にAIHAがある。AIHAは、体温付近で最大活性を示す温式自己抗体(IgG)による温式AIHAと4℃で最大活性を示す冷式自己抗体による冷式AIHAに大別される。さらに冷式AIHAは、寒冷凝集素(IgM)による寒冷凝集素病(cold agglutination syndrome: CAS)とIgG型の二相性自己抗体(Donath-Landsteiner抗体: DL抗体)による発作性寒冷ヘモグロビン尿症(paroxysmal cold hemoglobinuria: PCH)に分類される³⁾。溶血性貧血の半数(47.1%)はAIHAであり、温式AIHAがAIHA全体の90%、CASが8%、PCHが2%と報告されている⁴⁾。寒冷凝集素(IgM)やDL抗体(IgG)は、寒冷条件下で補体とともに赤血球と結合するが、体幹部での再加温で抗体は赤血球から遊離し、補体成分のみを赤血球膜上に残す⁵⁾ことから、DATで補体成分を検出することがCASやPCHの診断基準とされている⁶⁾。CASやPCHでは、寒冷暴露により急激な血管内溶血を来すことがあり、早期に診断し寒冷暴露を避けることが重要となる³⁾⁷⁾。

DATは生体内において患者赤血球に結合している免疫グロブリンや補体成分の有無を証明する検査のため、多特異抗グロブリン試薬あるいは抗IgG試薬+抗補体試薬の組み合わせで判定しなければならない。香臨技が年に1度実施している精度管理調査において、2018年に県内の複数施設からDATを調査項目に加えてほしいとの要望があり、輸血部門ではDATを調査対象項目として検査の標準化・統一化を図ることは妥当と考え、試験的に評価対象外項目として調査を開始した。3年間の施行期間後2021年度からは正式な調査項目として調査を実施した。2021年度の調査で抗IgG試薬単独で検査をしている施設は5施設あり、補体感作血球を用いた試料を「陰性」と判定した。抗IgG試薬単独での検査では補体感作の有無が検査できておらず、CASやPCHを見落とすことになるためD評価(不正解)とした。これを機にDATの臨床的意義への理解が深まり、各施設における検査体制が見直され、5施設中4施設において検査体制が是正された。

結果的に精度管理調査はDATの標準化に効果的であったが、同時に課題も見えてきた。検査件数の少ない施設で抗グロブリン試薬を数種常備すること、また

香川県下では間接抗グロブリン試験にPEGを用いている施設が多いため、抗IgG試薬を多特異抗グロブリン試薬に切り替えることはコスト面・管理面から難しいと考える。多特異抗グロブリン試薬あるいは抗補体試薬の導入が難しい施設においては、抗IgG試薬単独での検査結果をDATの結果と報告せず、臨床に誤解を招かないような報告を検討する必要がある。

今後の課題

・試薬種ごとの反応特性が示せるよう、抗補体試薬は抗C3b+C3dと抗C3dを別に集計する。

・単特異性試薬単独でDATを実施している場合には「不正解」とし、施設への更なる啓発に繋げたい。

・DATの陰性対照は試験管法の場合は必須であり、陰性対照を実施しなかった施設はC判定とした。カラム凝集法は、DAT専用のカラム以外は、すでに抗グロブリン試薬が充填されていることもあり、添付文書上も陰性対照について指示されていない。今回カラム凝集法で報告した全施設が陰性対照を実施したと報告していたが、検査の詳細については調査しておらず、現状を把握する必要がある。今後カラム凝集法での陰性対照の評価についてガイドラインの制定を望む。

結 語

調査を通して参加施設との相互関係を深め、施設の事情に配慮した助言や施設の精度保証に繋がる支援ができるよう今後も活動していきたい。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申請なし

文 献

- 1) 安田広康：スタンダード輸血検査テキスト 第3版、医歯薬出版株式会社、東京都、2020、106—113。
- 2) 池田 瞳：交差適合試験と直接抗グロブリン試験。検査と技術、49(4)：496—501、2021。
- 3) 亀崎豊実：自己免疫性溶血性貧血。日本内科学会雑誌、103(7)：1599—1608、2014。
- 4) 大野良之：溶血性貧血 平成11年度報告書(特定疾患治療研究事業未対象疾患の疫学像を把握するための調査研究班)、2000、31—88。
- 5) 自己免疫性溶血性貧血診察の参照ガイド 令和1年改訂版。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 特発性造血障害に関する調査研究班(研究代表者 三谷絹子) 令和2年(2020年3月)。
- 6) 難病情報センター：病気の解説・診断基準・臨床調査個人票61：自己免疫性溶血性貧血。
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-1090000-0-Kenkoukyoku/0000089910.pdf> (2023年5月現在)。

- 7) 中原衣里菜, 谷ヶ崎博, 菅野 仁: 我が国の発作性寒冷
ヘモグロビン尿症～文献的考察. 日本輸血細胞治療学会
誌, 67 (6): 541—548, 2021.

STANDARDIZATION OF DIRECT ANTIGLOBULIN TEST ～THE ACTIVITY OF KAGAWA QUALITY CONTROL COMMITTEE AT THE BLOOD TRANSFUSION DIVISION～

*Sachiko Onimatsu¹⁾, Kimiko Hiraoka²⁾, Ryo Watanabe³⁾, Saori Hosokawa⁴⁾, Mizuho Yamaji⁵⁾
and Akemi Miyagawa⁶⁾*

¹⁾Kaisei Hospital Clinical Laboratory Department

²⁾National Hospital Organization Okayama Medical Center Clinical Laboratory Department

³⁾Japan Organization of Occupational Health and Safety Kagawa Rousai Hospital Central Inspection Department

⁴⁾Takamatsu Red Cross Hospital Inspection Unit

⁵⁾Mitoyo General Hospital Central Inspection Department

⁶⁾Kinashi Obayashi Hospital Laboratory

Keywords:

direct antiglobulin test, external quality control, complementary sensation

©2024 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>