

## カラム凝集法の特性を理解したイレギュラー反応の考え方

◎小黒 博之<sup>1)</sup>

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社 診断薬 カスタマーサポート部<sup>1)</sup>

近年、輸血検査の標準化、ヒューマンエラー回避、輸血関連業務拡大に伴う輸血検査業務の効率化等を目的としてカラム凝集法ならびに自動輸血検査機器が普及し、特に最近では、自動輸血検査機器の導入が大規模施設から中小規模施設へシフトしつつあり、多くの医療機関においてカラム凝集法によって輸血検査が実施されています。日本輸血・細胞治療学会が実施した平成 28 年度血液製剤使用実態調査においても、主としてカラム凝集法で輸血検査を行っている施設が、血液型検査で 3,953 施設中 1,239 施設(31.34%)、不規則抗体スクリーニングで 3,590 施設中 1,937 施設(53.96%)となっており、病床数 300 床以上の施設に限ると各々 75.5%、81.8%の施設においてカラム凝集法が使用されています。また、自動輸血検査機器の使用割合は、病床数 300 床以上の施設では 77.7%と高く、平成 25 年度の同調査結果より 9.1%増加しています。

カラム凝集法と従来の試験管法は、いずれも赤血球膜上の抗原と対応する抗体による赤血球凝集反応を利用した検査法ではあるものの、原理、検査手順、反応特性など相違点も多く、カラム凝集法の試験管法との相違点、特性を十分に理解したうえで検査を行う必要があります。またこれらを理解しておくことによってイレギュラー反応時の解釈、対応が容易となる場合があります。

以下、弊社ゲルカラム凝集法(以下 ID-System)を例として試験管法との相違点、特性について解説いたします。

1. 検体量：ID-System の血漿(血清)を用いる検査では 1 チューブあたりの分注量は 25  $\mu$ L(ABO ウラ検査のみ 50  $\mu$ L)であり、試験管法の 4 分の 1 量で検査が可能です。

2. 赤血球試薬・赤血球浮遊液：ID-System に用いる赤血球試薬はすべて低イオン強度溶液(LISS)浮遊であり、クロスマッチ等で赤血球浮遊液を作製する場合も専用の希釈液(LISS)を使用します。間接抗グロブリン試験では LISS-間接抗グロブリン試験に相当しますが、試験管法での LISS 添加法ではなく、LISS 浮遊法といえます。

3. 分注：抗グロブリン試験における偽陰性反応、反応減弱化を防止するため、反応槽に赤血球試薬(浮遊

液)、血漿(血清)を分注する際に、チューブ内のバッファと間に空気層(air gap)を作る必要があります。

4. 遠心条件：凝集赤血球と非凝集赤血球を明瞭に分離するための必要最小限の遠心力(80g)で遠心を行うため、強い遠心力(900~1,000g)によって赤血球ペレットを形成する試験管法のように赤血球間に強い圧力がかからないことから、主に IgM 抗体による直接凝集反応は試験管法に比べてやや弱い傾向があります。

5. 凝集赤血球と非凝集赤血球の分離：凝集赤血球と非凝集赤血球をマイクロチューブ内に充填されているデキストランゲルのフィルター効果を利用して分離・固定するため、血漿(血清)中の微小フィブリン塊、クリオグロブリン等の固形物や血漿(血清)のゲル化等によってフィルター効果が低下・阻止される場合があります。

6. 抗グロブリン試験における赤血球洗浄：試験管法による抗グロブリン試験では、抗グロブリン試薬添加前にあらかじめ生理食塩液あるいは PBS を用いて赤血球を 3~4 回洗浄し、未感作グロブリンを除去する必要がありますが、ID-System では赤血球、バッファ、血漿(血清)の比重差により B/F 分離が行われるため、赤血球の洗浄操作は不要です。この赤血球洗浄の有無が低親和性抗体の検出に影響を与える可能性があります。

7. 赤血球感作 IgG の検出感度：抗グロブリン試験において陽性反応として検出可能な赤血球上の IgG 分子数は試験管法では約 200 分子程度であるのに対し、ID-System では約 70 分子と少なく、直接抗グロブリン試験の感度が高く、試験管法による直接抗グロブリン試験陰性の自己免疫性溶血性貧血の診断に有用な場合があります。

その他イレギュラー反応の実例をもとにこれら ID-System の特性を踏まえた原因の考え方、対応についてご紹介いたします。

## 直接抗グロブリン試験陽性時における輸血検査と対応

◎日高 陽子<sup>1)</sup>

東邦大学医療センター大森病院<sup>1)</sup>

直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) は、体内で赤血球が免疫グロブリンや補体に感作されているか調べる検査である。

### 【DAT 陽性の原因：臨床的意義あり】

自己抗体を保有する自己免疫性溶血性貧血 (autoimmune hemolytic anemia : AIHA) や同種抗体による溶血性輸血副反応 (hemolytic transfusion reaction : HTR)、母体からの移行抗体による胎児・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) などがある。これらは、感作された赤血球が体内で溶血するため、溶血所見と共に貧血症状を認める。

### 【DAT 陽性の原因：臨床的意義なし】

自己抗体により赤血球は感作されているが溶血所見を認めない非 AIHA や分子標的治療薬による影響などがある。健常人でも DAT が陽性になることがある。

### 【DAT 陽性時の検査】

DAT が陽性の場合、患者の疾患名や輸血歴、投薬情報、検査データを確認する。また、赤血球に感作している抗体を解離して同定検査の実施や、間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) を行い血漿中に不規則抗体を保有していないか検査する。自己抗体を保有している場合はすべての赤血球試薬と凝集するため、同種抗体の存在を見逃すことがある。自己赤血球で自己抗体を吸着して、同種抗体を保有していないか確認することが重要である。しかし、3 ヶ月以内に輸血歴がある患者は、輸血した赤血球で同種抗体が吸着される可能性があるため吸着には用いることが出来ない。分子標的治療薬による影響でも自己抗体と同様の反応態度を示す。しかし検査方法や対応が異なるため、投薬情報が重要となる。

### 【輸血用血液製剤の選択】

同種抗体を保有している場合は、当該抗原陰性血を選択する。同種抗体を保有していない非 AIHA の場合は、とくに抗原選択の必要はない。AIHA の場合は、免疫原性が高い Rh 血液型は患者と同型が望ましい。自己抗体に特異性を認めた場合でも、患者と Rh 表現型が同型の血液製剤を選択する。しかし、輸血効果を認めない場合は、対応する抗原が陰性の赤血球製剤を

選択すると輸血効果を認めることがある。

### 【まとめ】

直接抗グロブリン試験が陽性となる要因は様々である。臨床的意義がないことが多いが、AIHA や HTR、HDFN などの診断には重要である。溶血所見の原因となる抗体を見逃さないためにも追加すべき検査を理解し、同種抗体を作らせない血液製剤の選択をすべきである。

連絡先：03-5763-6660