

ABO 血液型検査用疑似検体を用いた血液型検査実習の評価

笠 井 英 利 *

要 旨 ABO 血液型検査では、オモテ・ウラ不一致により判定に苦慮する症例が存在する。教育機関では ABO 血液型検査において判定に苦慮する検体の入手が困難であるため、本学では疑似検体を作製して ABO 血液型検査実習に利用している。今回、部分凝集およびオモテ・ウラ不一致の疑似検体を用いた ABO 血液型検査実習の教育的有用性について検討した。部分凝集の疑似検体では、レクチンとの反応性により重型の考察、オモテ・ウラ不一致の疑似検体では、吸着解離試験の結果よりオモテ検査の偽陰性反応を考察できており、学生の ABO 血液型検査試験管法において適切な判定に役立っていた。疑似検体を用いた ABO 血液型検査実習は、判定に苦慮する症例における必要な追加検査の方法や、それら結果から考えられる原因の推定について学修するために有用と考えられる。

キーワード ABO 血液型検査、部分凝集(mf)、オモテ・ウラ不一致、疑似検体

緒 言

血液型は、赤血球表面にある抗原の血清学的検査法によって多くの型に分類される。中でも、ABO 血液型と Rh 血液型は輸血学上の最も重要な血液型システムである¹⁾。ABO 血液型は、赤血球表面の A 抗原と B 抗原、血漿(血清)中の抗 A と抗 B に保有規則があり、A 抗原と B 抗原を検出するオモテ検査の判定結果と、抗 A と抗 B を検出するウラ検査の判定結果の一致をもって決定される。ABO 血液型検査は不適合輸血を防ぐため、適切に管理された試薬、方法のもと、正確に実施されなければならない²⁾。年齢、遺伝、疾患、治療などの理由でオモテ・ウラ不一致が起こり、ABO 血液型の判定に苦慮する場合³⁾、輸血に用いる血液製剤を選択できず輸血開始が遅延してしまう恐れがある。したがって、患者情報の確認、追加検査

を通じた適切な血液製剤を迅速に選択するための知識と技術が必要不可欠となる。そのため、学内実習において、オモテ・ウラ不一致で判定に苦慮する症例について学修しておくことは質の高い輸血検査教育につながる。しかし、教育機関では臨床検体を入手することが困難であることが多い。本学では、既存の血液試料を混合、希釈するなどして疑似検体を作製し⁴⁾⁵⁾、血液型検査実習に利用している。本稿では、作製した疑似検体を用いた血液型検査実習への取り組み、教育的有用性について報告する。

I. 対象と方法

1. 対 象

2024 年度中に帝京短期大学ライフケア学科臨床検査専攻の 2 学年に在籍する 21 名の学生を対象とした。

* 帝京短期大学ライフケア学科 kasai@teikyo-jc.ac.jp

表 疑似検体①②の ABO 血液型検査の結果

疑似 検体	オモテ検査			ウラ検査			追加試験
	抗 A 試薬	抗 B 試薬	判定	A ₁ 血球	B 血球	判定	
①	mf	0	A ^{mf}	0	4+	A 型	抗 A ₁ レクチンと陽性
②	0	0	O 型	4+	0	B 型	抗 B 試薬を用いた吸着解離試験で陽性

2. 試薬および機器

ABO 血液型検査は、オーソ® バイオクロン® 抗 A (以下、抗 A 試薬) および抗 B (以下、抗 B 試薬)、アフーマジェン® (以下、A₁ 血球および B 血球) を用いた。A₁ 抗原検査は、オーソ® 抗 A₁ レクチン (以下、抗 A₁ レクチン) (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社) を使用した。また、判定用遠心機として、血球洗浄用遠心機 HS-12 (株式会社コクサン) を使用した。

3. 疑似検体の調製

①部分凝集 (mixed field agglutination ; mf) を示す疑似検体 (以下、疑似検体①)

洗浄済み A 型赤血球沈渣 6 滴、洗浄済み O 型赤血球沈渣 4 滴、A 型血漿 10 滴の割合で混合した。

②オモテ検査 O 型、ウラ検査 B 型を示す疑似検体 (以下、疑似検体②)

洗浄済み O 型赤血球沈渣 19 滴、洗浄済み 5%B 型赤血球浮遊液 1 滴、B 型血漿 20 滴の割合で混合した。

4. ABO 血液型検査結果

疑似検体①②の ABO 血液型検査結果を表にまとめた (表)。

5. 疑似検体を用いた輸血検査学実習

(1) 疑似検体①

全ての学生が試験管を用いた ABO 血液型検査を実施した。直後判定の初見で mf を検出できなかった学生は、通常 A 型の判定像と比較した後、再判定を行った。さらに、追加検査として、全ての学生が抗 A₁ レクチンを用いた A₁ 抗原検査を実施した。

(2) 疑似検体②

全ての学生が試験管を用いた ABO 血液型検査を実施した。さらに、追加検査として、3～4 名のグループ (全 6 グループ) の代表者が抗 B 試薬

を用いた吸着解離試験を実施し、得られた判定結果をグループ内で共有した。

6. 結果の集計

それぞれの疑似検体に対する ABO 血液型検査の判定結果、ABO 血液型検査の直後判定時点に推測した原因、追加検査後の結果解釈を実習時の記録や提出されたレポートより集計した。

II. 結 果

1. 疑似検体①

ABO 血液型オモテ検査の直後判定において、初見から抗 A 試薬との反応で mf を検出し、判定保留とした学生が 9 名 (42.9%)、mf を検出できず A 型と判定した学生が 12 名 (57.1%) であった。初見の判定を A 型と判定した 12 名の学生の内、通常 A 型の判定用試験管と比較、再判定することで、抗 A 試薬との陽性反応を mf に改めた学生が 11 名で、最終的に 20 名 (95.2%) の学生が mf を検出できた。mf を検出した 20 名の学生の挙げた mf の原因は、キメラ・モザイクが 17 名 (85.0%)、ABO 異型造血幹細胞移植が 17 名 (85.0%)、重型が 16 名 (80.0%)、ABO 異型適合赤血球輸血が 16 名 (80.0%) で多かった (図 1)。また、mf を検出できた学生の内、追加検査として実施した抗 A₁ レクチンを用いた A₁ 抗原検査を陽性と判定した学生が 18 名 (90.0%)、記載なしの学生が 2 名 (10.0%) であった。追加検査を通じた結果解釈として、mf の原因を重型とした学生が 1 名 (5.0%)、重型以外の原因とした学生が 15 名 (75.0%)、記載なしの学生が 4 名 (20.0%) であった。

2. 疑似検体②

ABO 血液型検査の直後判定において、21 名全ての学生がオモテ検査 O 型、ウラ検査 B 型と判定し、総合判定を判定保留とした。21 名の学生の挙

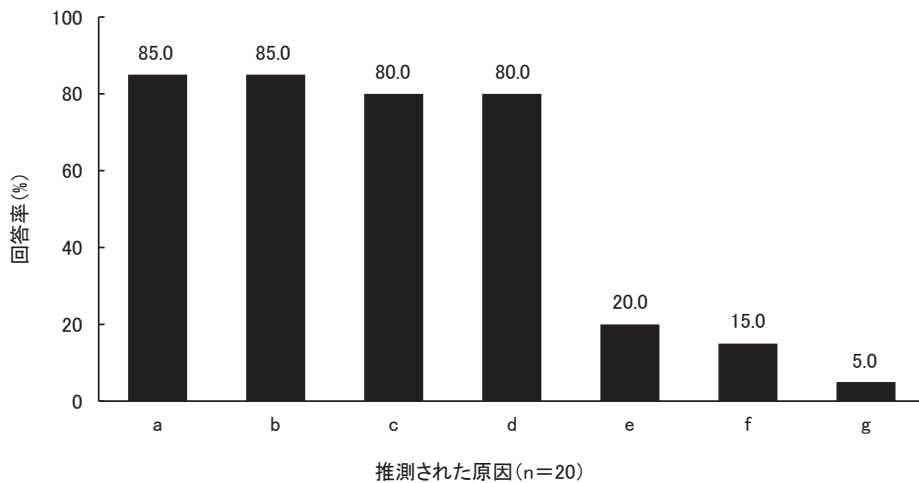


図1 疑似検体①の直後遠心法後に推測された原因

疑似検体①の ABO 血液型検査、直後遠心法の判定の時点で推測された MF の原因を集計した。ただし、技術的要因は除外した。

a: キメラ・モザイク b: ABO 異型造血幹細胞移植 c: 亜型 d: ABO 異型適合赤血球輸血 e: 血液疾患による抗原減弱 f: 血漿中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和 g: 胎児母体間輸血症候群

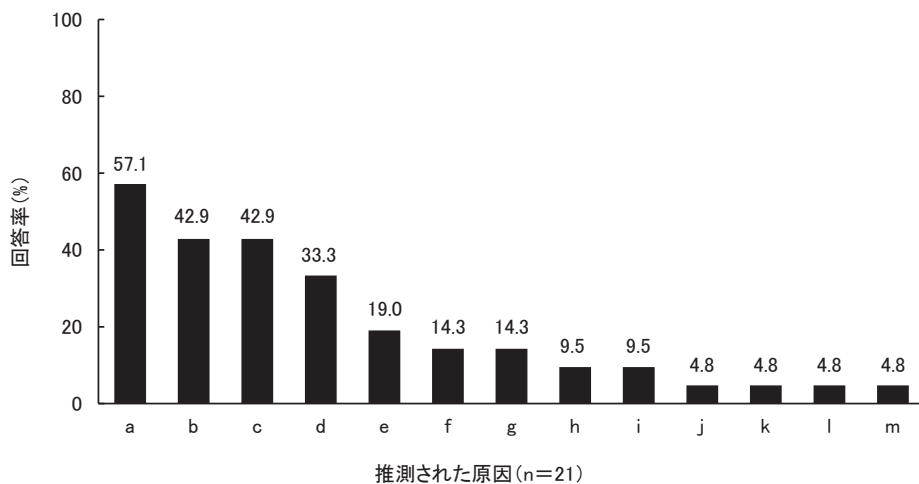


図2 疑似検体②の直後遠心法後に推測された原因

疑似検体②の ABO 血液型検査、直後遠心法の判定の時点で推測されたオモテ・ウラ不一致の原因を集計した。ただし、技術的要因は除外した。

a: 亜型 b: 血液疾患による抗原減弱 c: 血漿中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和
d: ABO 異型造血幹細胞移植 e: 低 γ -グロブリン血症 f: 免疫不全症 g: 連鎖形成 h: 年齢(新生児、高齢者)
i: 冷湿抗体 j: 寒冷凝集素 k: Bombay para-Bombay l: ABO 異型適合赤血球輸血 m: 微量抗原

げたオモテ・ウラ不一致の原因は、亜型が12名(57.1%)、血液疾患による抗原減弱が9名(42.9%)、血漿中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和が9名(42.9%)、ABO異型造血幹細胞移植が7名(33.3%)で多かった。その他、妥当性の低い原因も多数散見された(図2)。また、追加検査として実施した抗B試薬を用いた吸着解離試験では、6グループの代表者6名がB血球との特異的な陽性反応を検出した。追加検査を通じた結果解釈として、疑似検体に微量のB抗原が存在することを示した学生が14名(66.7%)、記載なしの学生が7名(33.3%)であった。

III. 考 察

ABO血液型検査でオモテ・ウラ不一致に遭遇した場合は、初めに再検査を実施して事務的・技術的要因を確認し、次に患者情報(年齢、疾患名、輸血歴、移植歴、投与薬剤など)を参考に可能性の低い原因を除外した後、原因確定のための追加試験を実施する。教育機関では、オモテ・ウラ不一致の臨床検体を入手することが困難であることが多く、症例を模擬した様々な疑似検体の作製が試みられている^{6)~8)}。本稿では、本学で作製した疑似検体を用いたABO血液型検査実習の教育的有用性について検討した。

疑似検体①のmfはdouble cell populationとも呼ばれ、凝集した赤血球と非凝集の赤血球が混在している状態である。A型血球6とO型血球4の割合で混合した疑似検体①について、mfを検出できた学生は9名(42.9%)であった。初見ではmfを検出できなかったがA型の判定像と比較することで、最終的に20名(95.2%)の学生がmfを検出できた。この結果から、疑似検体①は血球の凝集塊だけでなく背景の濁りや色調も観察する重要性を学修するのに適していたと考える。しかし、1名(4.8%)の学生は最後までmfを確認できずA型に判定していたため、スライド法による再検査を実施することでmfを判定しやすくなると推測した。mfの主な原因は、①キメラ・モザイク②ABO異型造血幹細胞移植③亜型(A₃, B₃, Amos, Bmos)④ABO異型適合赤血球輸血⑤血液疾患による抗

原減弱⑥胎児母体間輸血症候群⑦年齢(新生児、高齢者)などである。学生が推定した原因として①~④は80%以上の高い正答率となり、A抗原の有無について理解しやすかったと思われたが、⑤は20.0%および⑥は15.0%と低い回答率だった。⑤の血液疾患による抗原減弱の凝集像は、大きさがさまざまな凝集塊が非凝集の赤血球と混在し、mfで生じる大きな凝集塊との違いを調べて原因から削除したため低い回答率になったと推察する。⑥の胎児母体間輸血症候群は、胎盤の絨毛血管の破綻により分娩前または分娩中に胎児血が母体循環に流入することで発症する。胎児母体間輸血症候群によりmfを示すことは稀であるが、3名(15%)の学生は疾患名と疾患のメカニズムをよく学修していた。また、⑦年齢(新生児、高齢者)は1人も原因に挙げておらず、新生児や生後4ヵ月以下の乳児の場合は、ABO抗原は未熟でありmfを示すことがあることが把握できていなかった。1名(5%)の学生は血漿中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和を誤って原因としていたことが課題となった。追加試験として実施した抗A₁レクチンを用いた検査は、A₁抗原の有無を確認することを目的とした検査である。陰性の場合は亜型(A₃)の可能性があるが、陽性となったことからmfの原因を亜型と回答していた16人中15人が亜型を否定できていた。

疑似検体②は、全ての学生がオモテ・ウラ不一致により血液型を判定保留としており、オモテ検査とウラ検査の両検査結果が完全に一致して初めて正確なABO血液型を判定するという基本的な判定方法を理解していた。オモテ検査O型、ウラ検査B型の反応を示す主な原因は、①亜型(Bm)②血液疾患による抗原減弱③血漿中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和④ABO異型造血幹細胞移植などである。図2の学生が推定した原因にあてはめると、33.3~57.1%の学生がa~dの的確な原因を回答しており、4.8~19.0%の学生がe~mの9種類の誤った原因を回答していた。オモテ検査O型、ウラ検査B型の反応を示す場合は、オモテ検査で抗B試薬と偽陰性反応、または、ウラ検査でB血球と偽陰性反応を生じた可能性を

想定し、血球側と血漿側の両方の反応性を考慮して原因を推測する必要がある。疑似検体①に比較して疑似検体②はオモテ・ウラ不一致の考え方が複雑なため、的確な原因を挙げた学生が少なく、かつ、的外れな原因を挙げていた学生がいたと考える。追加試験で実施した抗 B 試薬を用いた吸着解離試験は、試験管法では検出できない微量の B 抗原を検出することを目的とした検査である。14 名 (66.7%) の学生は、吸着解離試験の陽性反応から疑似検体②に微量の B 抗原を認めた。試験管法ではオモテ検査 O 型、ウラ検査 B 型の反応を示したが、微量の B 抗原を有している患者に輸血する場合は、赤血球、血漿、血小板ともに B 型を選択する必要があることを学修できた。

疑似検体①の mf は赤血球側の要因であり、追加検査により ABO 亜型の鑑別フローチャートの考え方が理解できた。また、疑似検体②は血球側と血漿側の両方の反応性を考慮して原因を推測する必要がある、追加検査により輸血用血液製剤の選択が理解できた。よって、2 種類の疑似検体は、ABO 血液型の判定に苦慮する症例に対する問題解決の流れを学修するためのツールとして有用であり、ABO 血液型検査をより深く考えるための良い教材となったと考えられる。

IV. 結 語

ABO 血液型検査でオモテ・ウラ不一致をきたし、判定に苦慮する症例を想定した血液型検査実習を行うことは、将来臨床検査技師として働く学生にとって重要である。ABO 血液型検査で判定不能を示す疑似検体を作製し血液型検査実習に用いることは、ABO 血液型検査のより深い理解のための有効な手段となる。

COI 状態

投稿論文に関連し、開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

本研究は帝京短期大学研究倫理委員会の承認 (受付番号 2024-7 号) を受け実施した。

文 献

- 1) Sharma DC, Rai S, Iyenger S, Jain B, Sao S. Prevalence and Distribution of ABO and Rh-D Antigens along with Its Subgroups & Rare Types in Greater Gwalior Region. *Open Journal of Blood Diseases* 2013; 3: 69-73.
- 2) 奥田 誠, 池本純子, 石丸 健, 内川 誠, 梶原道子, 北澤淳一, その他. 赤血球型検査 (赤血球系検査) ガイドライン (改訂 4 版). *Jpn J Transfus Cell Ther* 2022; 68: 539-56.
- 3) 川俣豊隆, 衡田経子, 阿部結花, 尾上和夫, 東條有伸, 長村 (井上) 登紀子. 当院における ABO 血液型オモテ・ウラ検査不一致の基礎疾患の検討. *Jpn J Transfus Cell Ther* 2017; 63: 683-90.
- 4) 森山昌彦. 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会 監修. 付録 2 輸血検査関連試料作製方法, JAMT 技術教本シリーズ, 輸血・移植検査技術教本 第 2 版. 東京: 丸善出版 2023: 265-68.
- 5) 笠井英利. 血液型判定が困難となる学内実習用疑似検体の作成. 帝京短期大学教育研究報告集 2024; 61-8.
- 6) 山口 航, 瀬川美桜, 瀧口響子, 高嶋眞理, 眞鍋紀子. 学内実習のための交差混合試験 (クロスミキシング試験) 疑似検体の作製. *臨床検査学教育* 2018; 10: 14-8.
- 7) 登尾一平, 山本隆敏, 坂本亜里紗, 田邊香野, 川口辰哉, 榎原真二, その他. 交差混合試験の新規実習教材の開発: 直接経口抗凝固薬を用いたインヒビター疑似検体の可能性. *臨床検査学教育* 2019; 11: 175-81.
- 8) 登尾一平, 田邊香野, 山本隆敏, 南部雅美, 榎原真二, 川口辰哉, その他. Bernard-Soulier 症候群様疑似検体を用いた血小板凝集能検査実習の試み. *臨床検査学教育* 2022; 14: 18-23.