

第11回 HLAQCワークショップ(抗体部門)  
－検査方法別解析(LABScreen)－

大阪府赤十字血液センター

高 陽淑

# 検査方法と抗体検出の有無

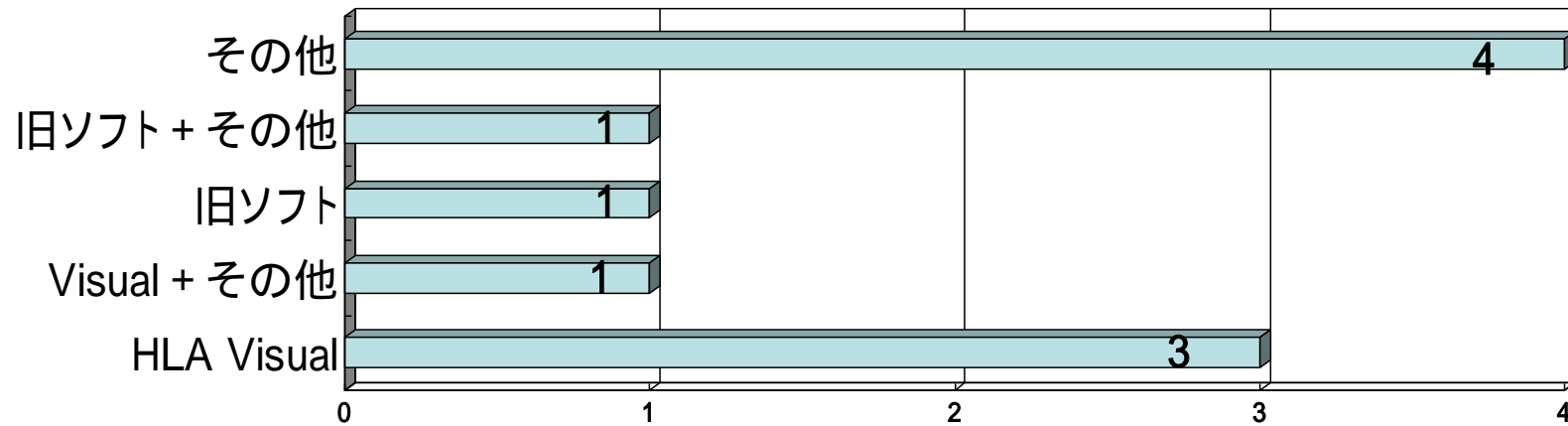
施設 コード	クラス				検査 方法	クラス				検査 方法
	1901	1902	1903	1904		1901	1902	1903	1904	
S026	1	8	8	8	P, <b>S</b>	8	1	1	8	P, <b>S</b>
S025	1	8	8	8	P, <b>S</b>	<b>1</b>	1	1	<b>1</b>	P
S021	1	8	8	8	P	8	1	1	<b>4</b>	P
S019	1	8	8	8	<b>S</b>	0	0	0	0	
S013	1	8	8	8	M, <b>S</b>	8	1	1	<b>1</b>	M, <b>S</b>
S009	<b>4</b>	8	8	8	M	8	1	1	<b>1</b>	M
S008	<b>8</b>	8	8	8	P, <b>S</b>	8	1	1	8	P, <b>S</b>
S007	<b>8</b>	8	8	8	P, <b>S</b>	8	1	1	8	P, <b>S</b>
S006	1	8	8	8	<b>S</b>	<b>1</b>	1	1	<b>1</b>	P, <b>S</b>
S005	1	8	8	8	M,P, <b>S</b>	8	1	<b>8</b>	8	P, <b>S</b>
S004	1	8	8	8	M,P, <b>S</b>	8	1	1	8	P, <b>S</b>

M: Mixed, P: PRA, S: Single antigen、Singleは同一Lotを同色で示した。

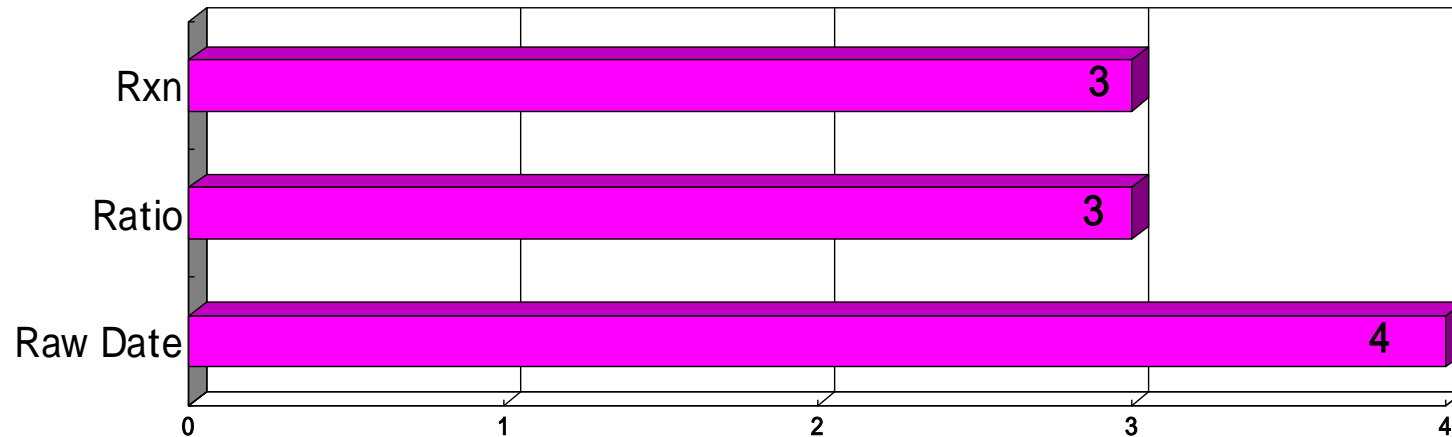
# 判定条件の比較

(N=10施設)

## 使用解析ソフトの比較



## 判定時に最も重要視する値



## LAB Screen Mixedの結果比較

- Mixed実施の4施設から提出されたCSVファイルをもとにHLA Visual解析ソフトを用いて自動判定した。
- 自動判定の結果と、その施設が最終的に判断した、抗体の有無の結果が食い違っている場合を黄色のセルで示した。
- 検査状況の比較の参考として、表中下段にPC/NCを青字で示した。

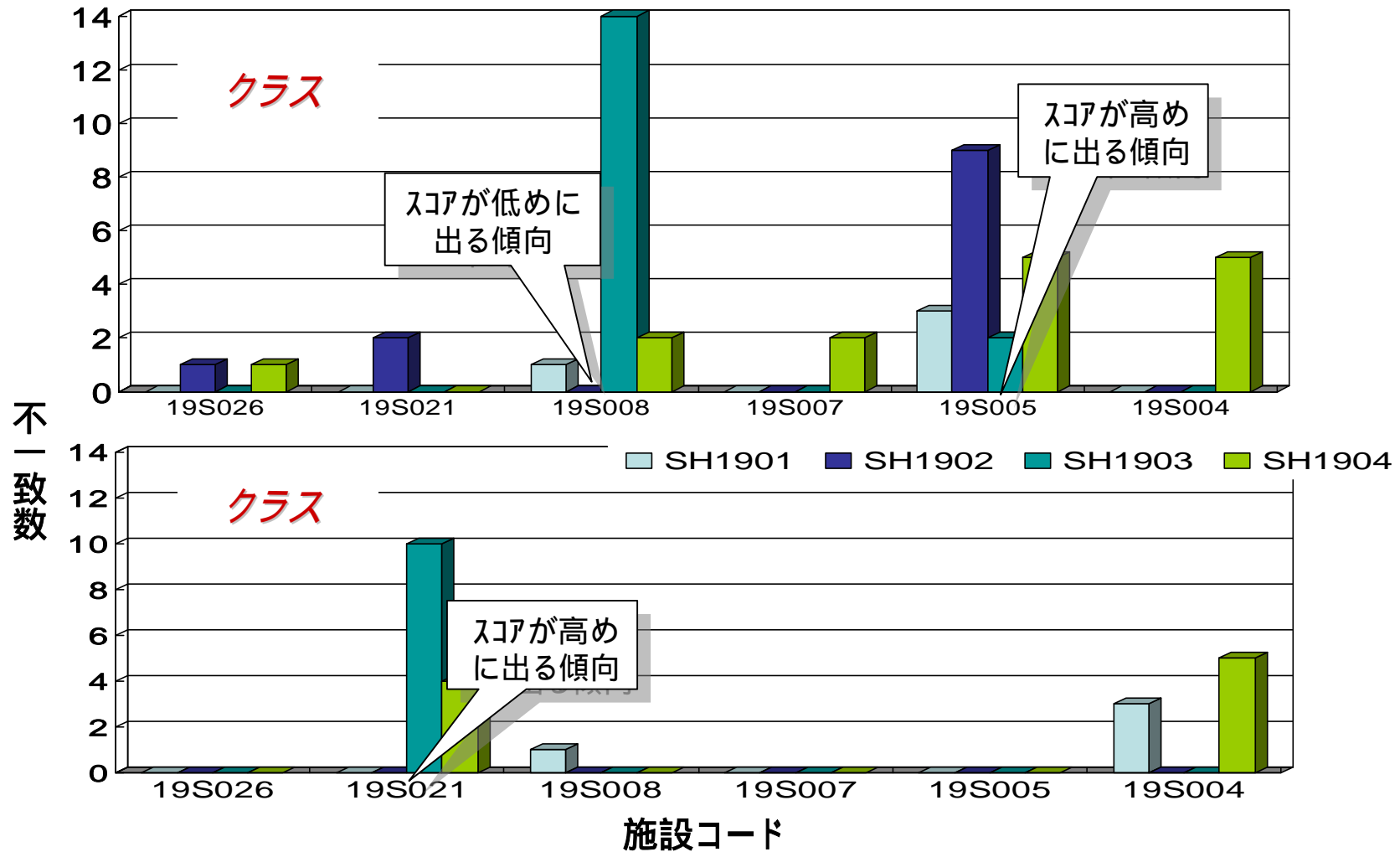
# LABScreen Mixedでの結果の比較

施設 コード	Lot	SH1901		SH1902		SH1903		SH1904	
		クラス	クラス	クラス	クラス	クラス	クラス	クラス	クラス
S004	13	陽性	陽性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陽性
		338.92		288.75		56.86		303.22	
S005	11	陰性	陽性	陽性	陰性	陽性	保留	陽性	陰性
		46.25		105.64		81.74		96.64	
S009	10	陽性	陽性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
		137.36		123.76		9.79		201.4	
S013	11	陽性	陽性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
		90.62		167.52		20.86		74.81	

## LABScreen PRAの反応性に関する解析

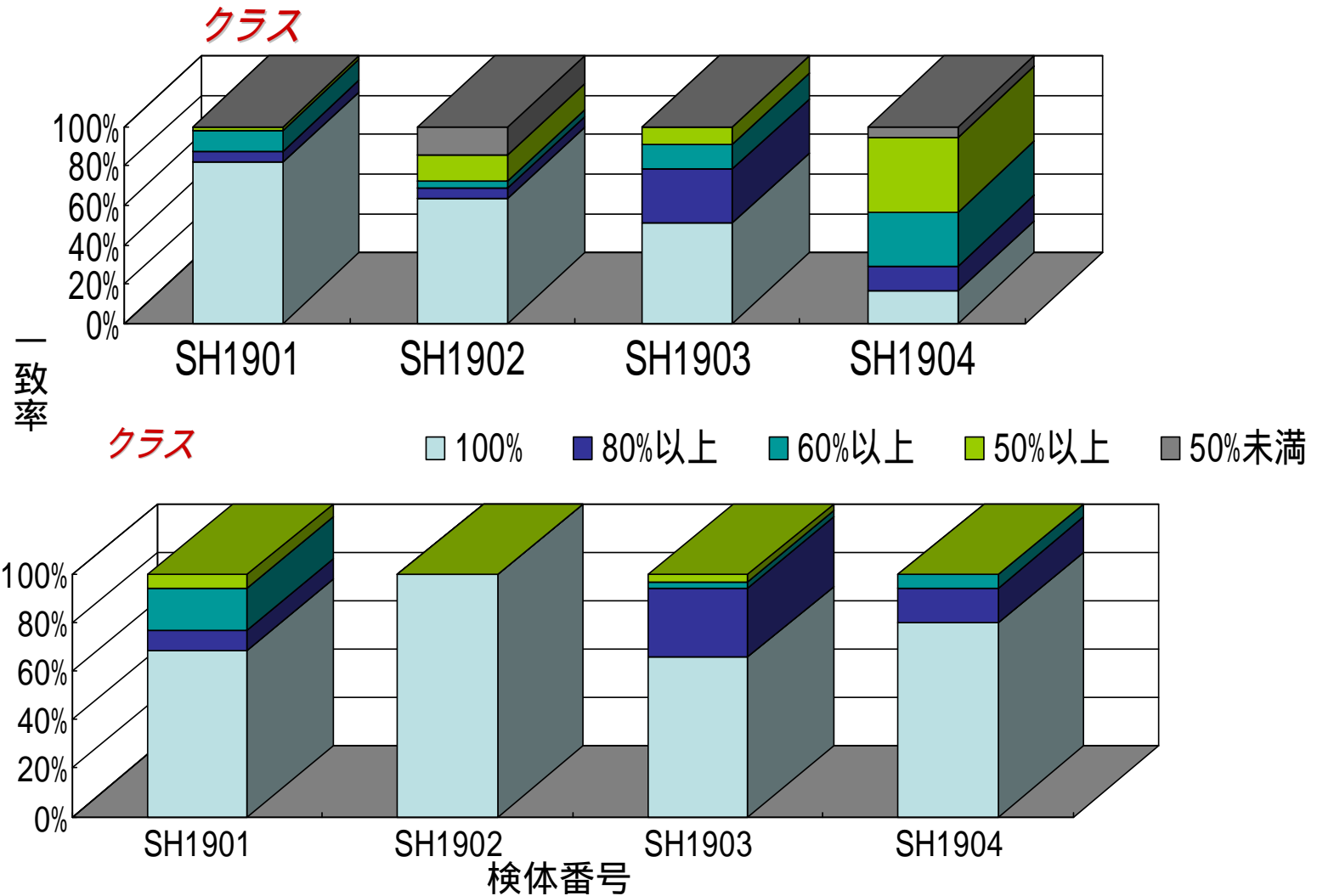
- PRA を実施した7施設の使用試薬は全てLot10と統一していた事から、施設間の反応性の差異について解析を行った。
- 但し、施設19S025に関しては、Negative Controlのデータが無く他施設とは測定スコアが若干異なるために、この解析からは除外した。

# 施設別測定スコアの不一致数



各ビースの測定スコアが他施設と違う場合を不一致と定義して、その数をカウントした。

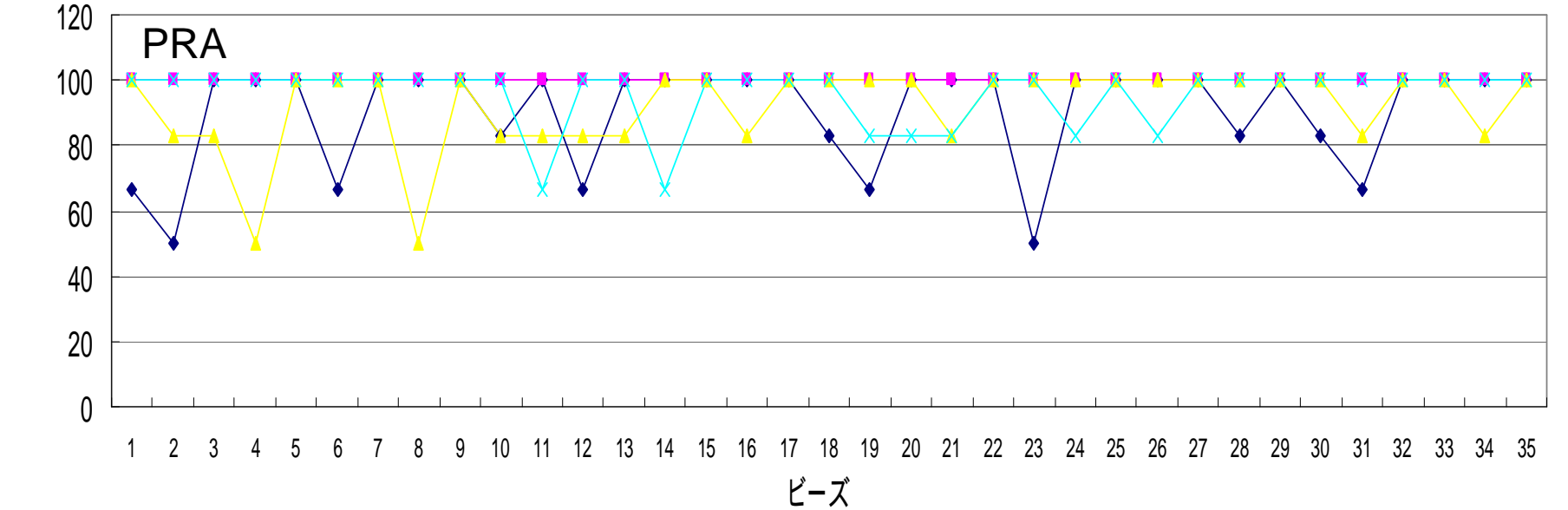
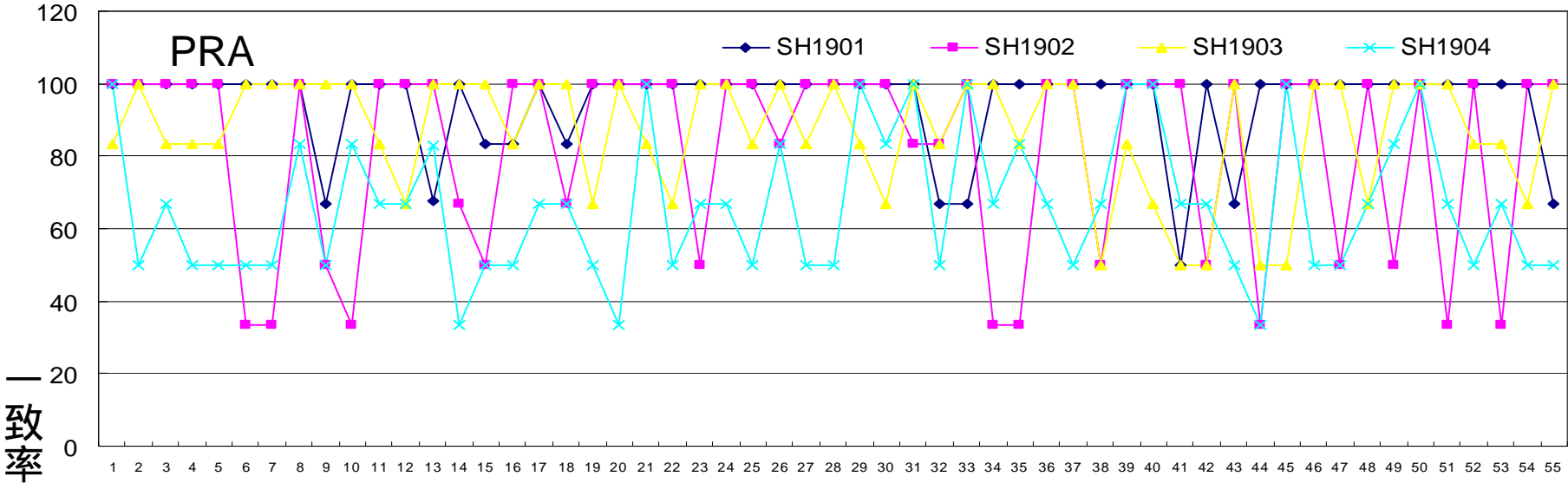
# 測定スコアの一致率



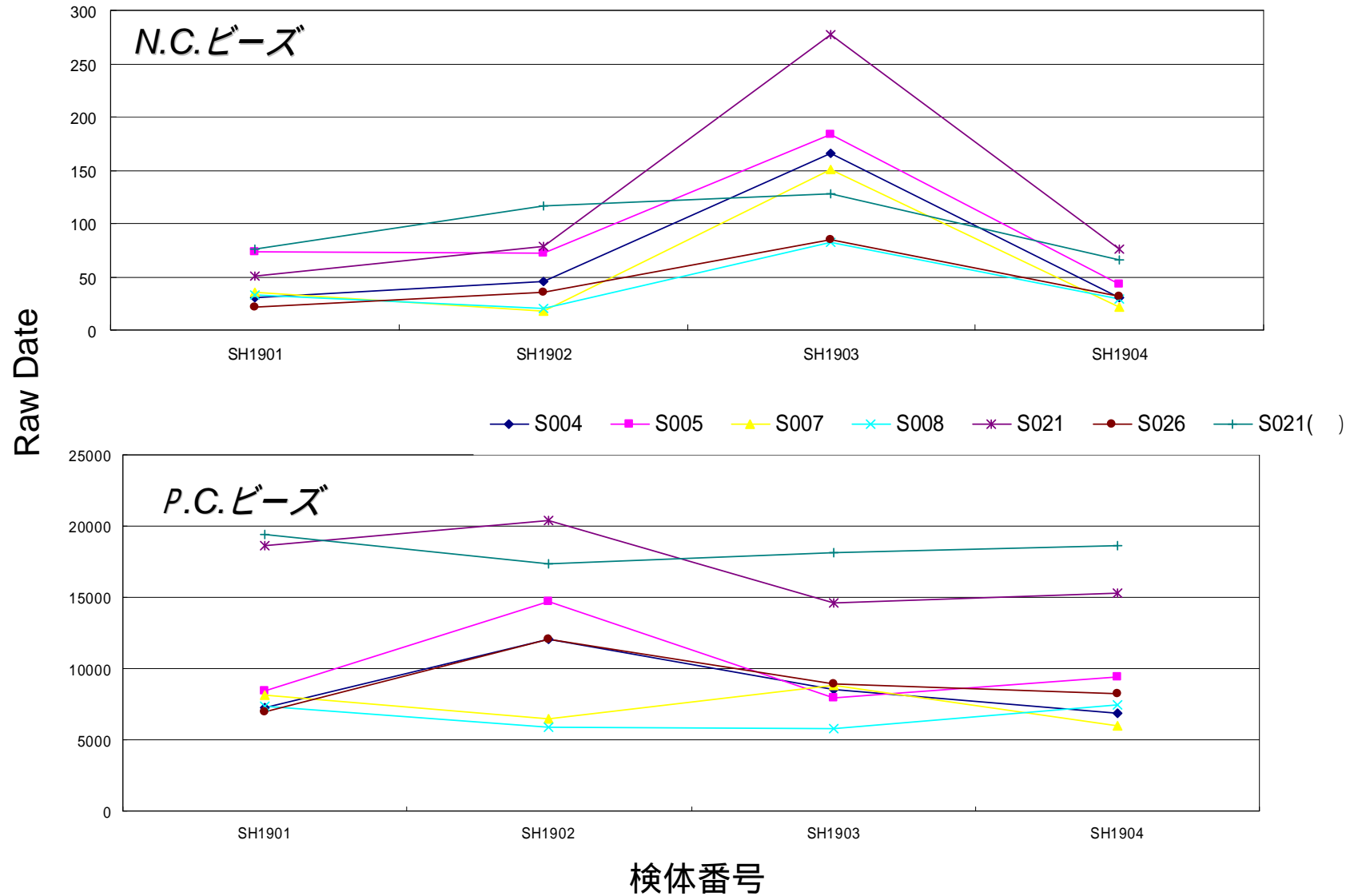
各ビースの測定スコアが全施設でどれだけ一致しているかを検体別に確認した



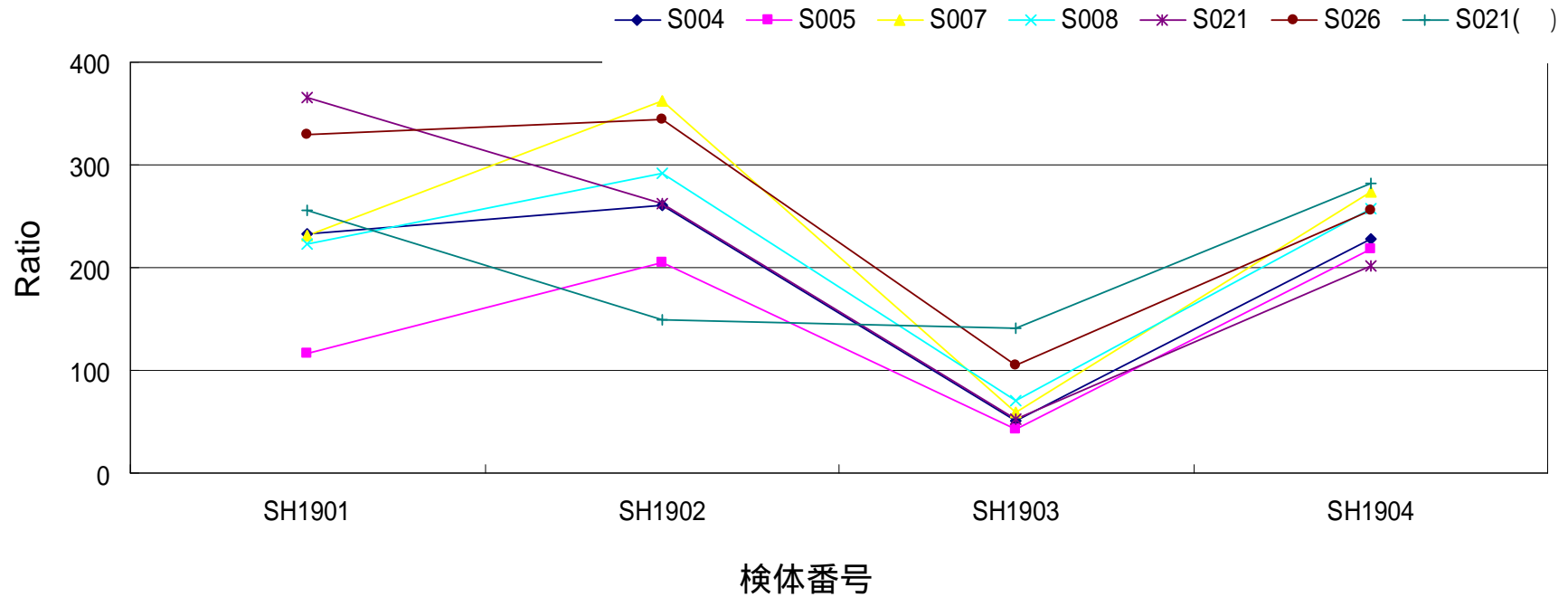
# PRA各ビーズ測定値の一致率



# コントロールビーズの反応性の比較

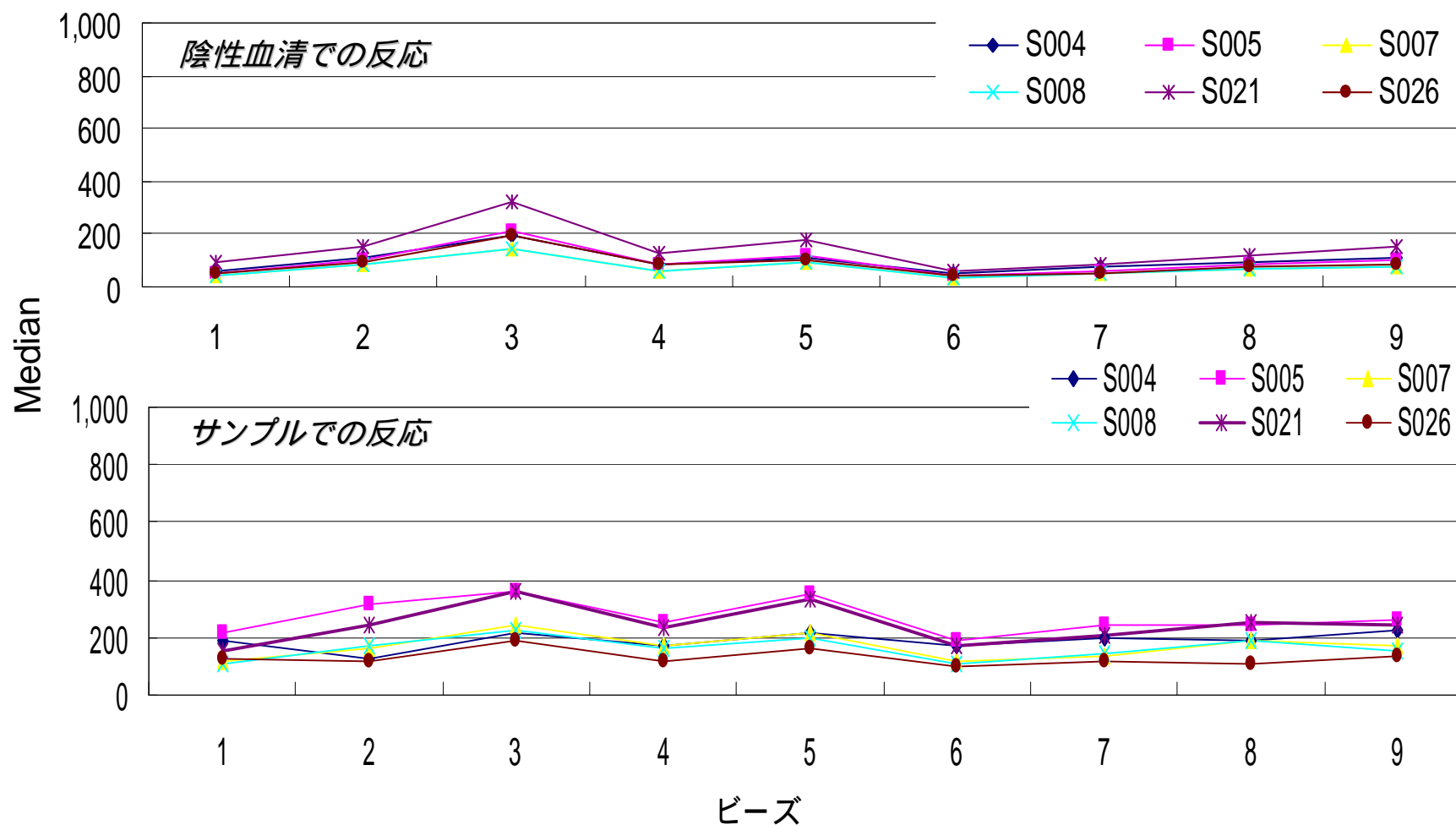


# PC/NCの比較



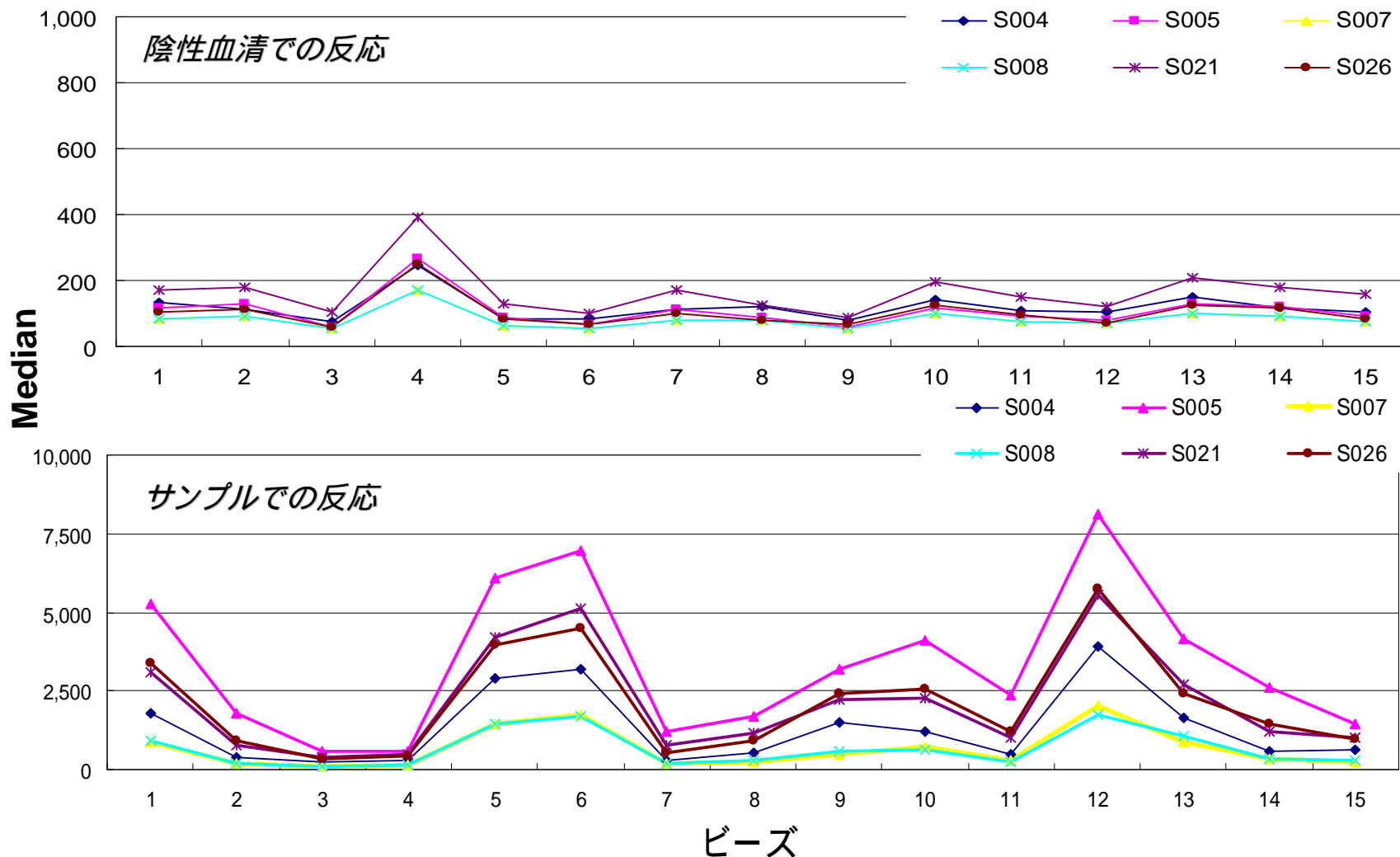
施設021は( )の表示が付いている線がPRA で、( )無しがPRA の値である。  
それ以外の施設は同じウェルで測定しているので値は1つしかない。

# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1901)



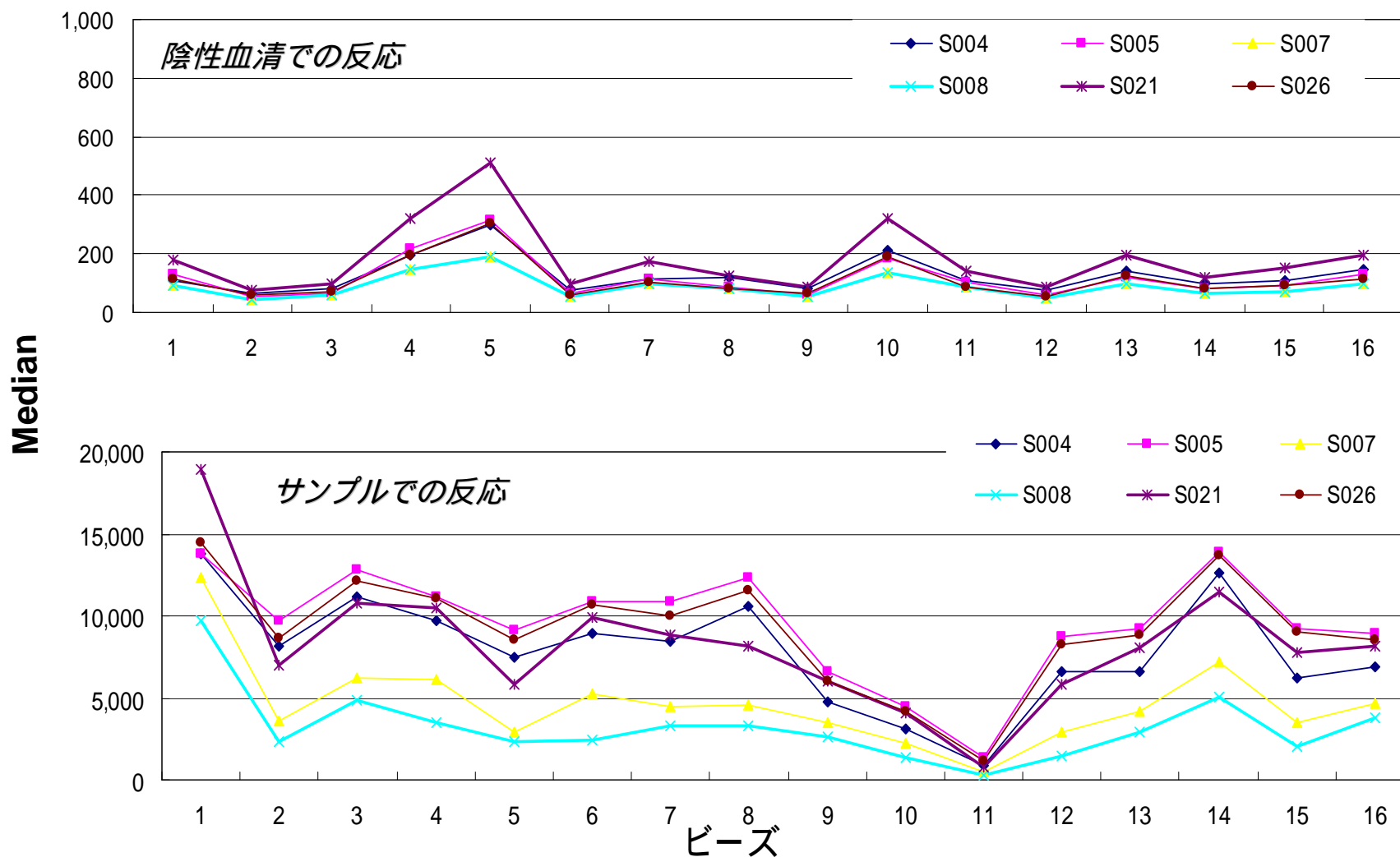
SH1901の測定に用いたPRA の55ビーズのうち、施設間の一致率が低かった9種類のビーズについて陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1902)



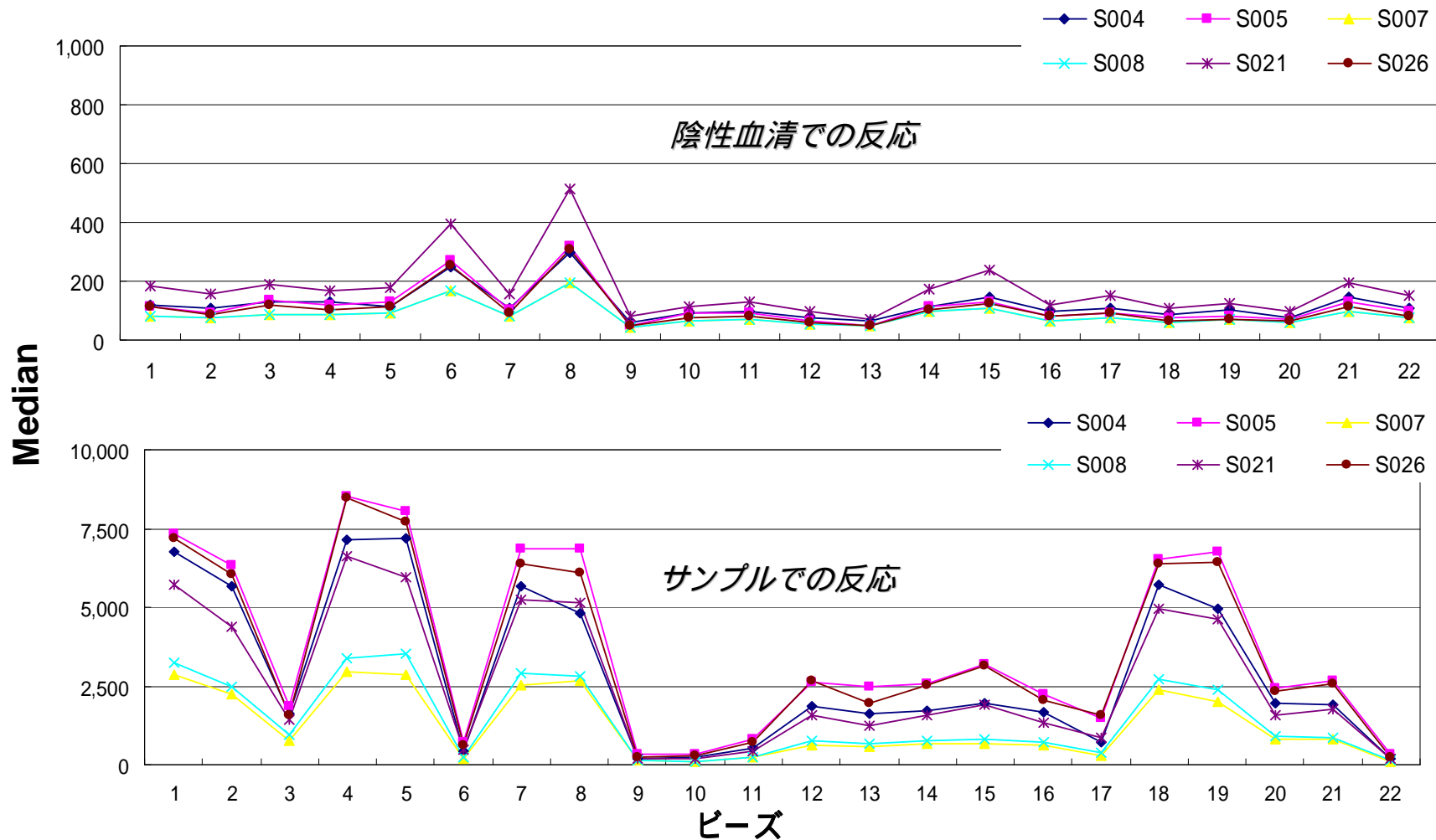
SH1902の測定に用いたPRA の55ビーズのうち、施設間の一致率が低かった15種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1903)



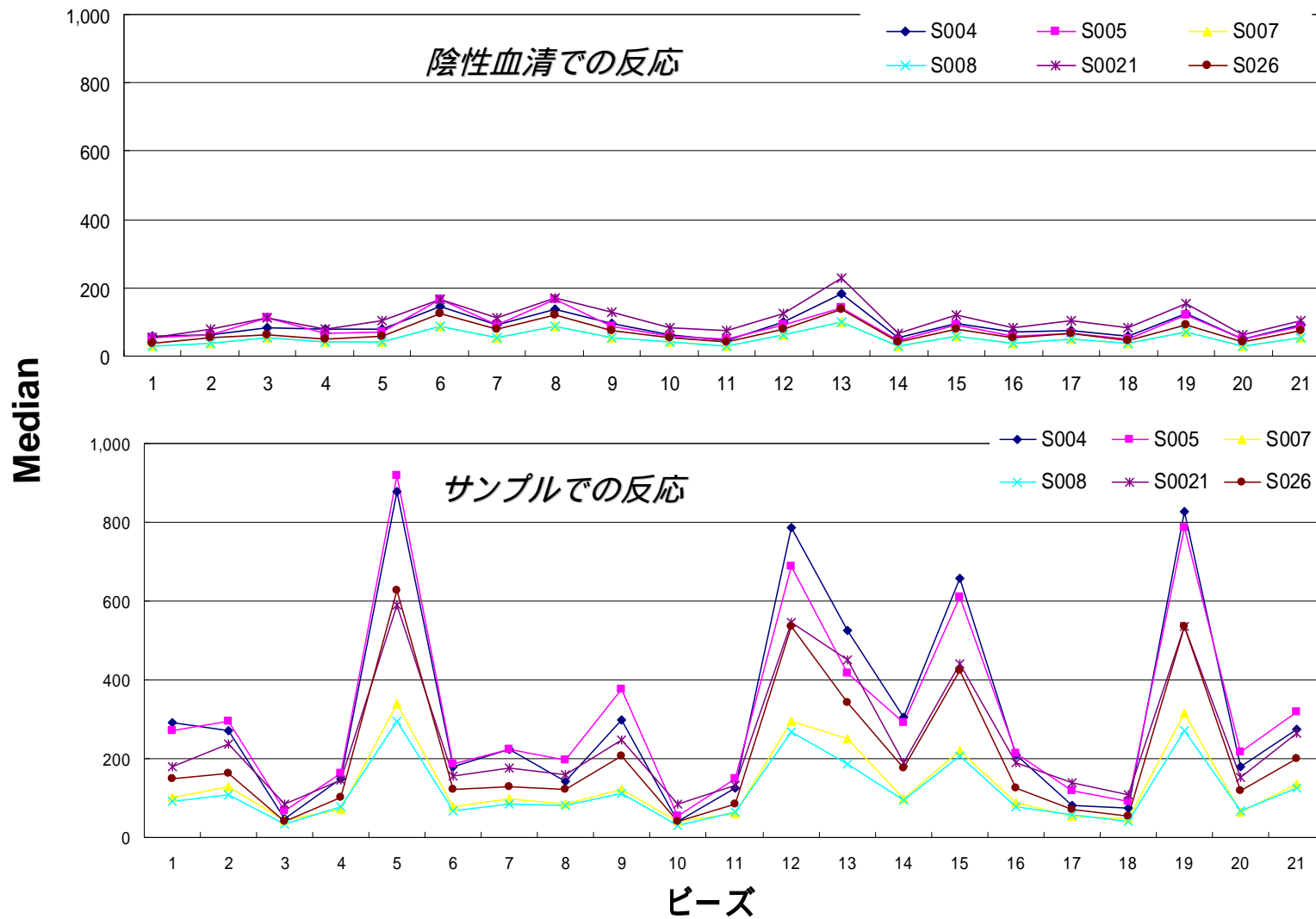
SH1903 の測定に用いたPRA の55ビーズのうち、施設間の一貫率が低かった16種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1904)



SH1904の測定に用いたPRA の55ビーズのうち、施設間の一致率が低かった22種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

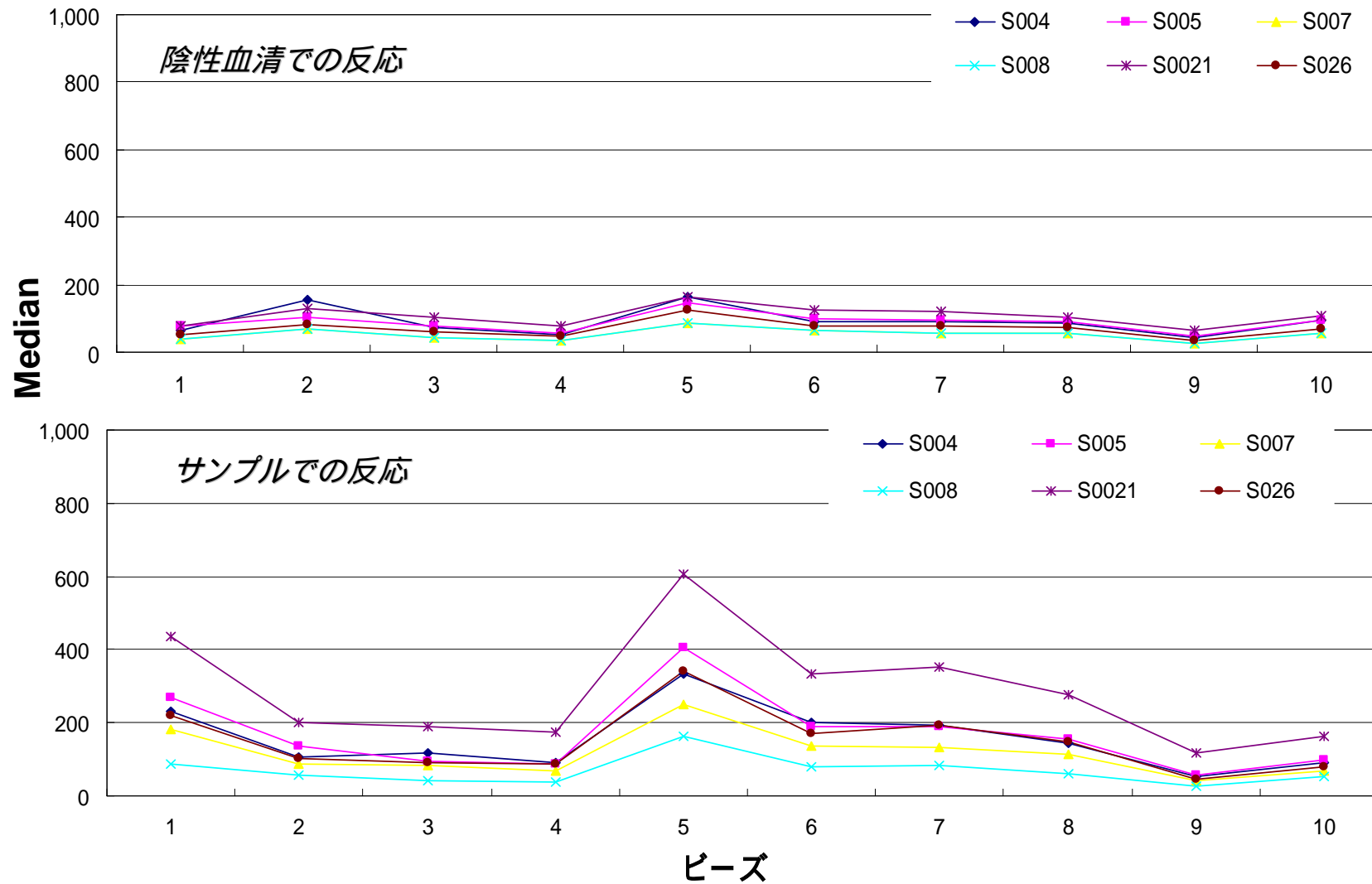
# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1901)



SH1901の測定に用いたPRA の35ビーズのうち、施設間の一致率が低かった21種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

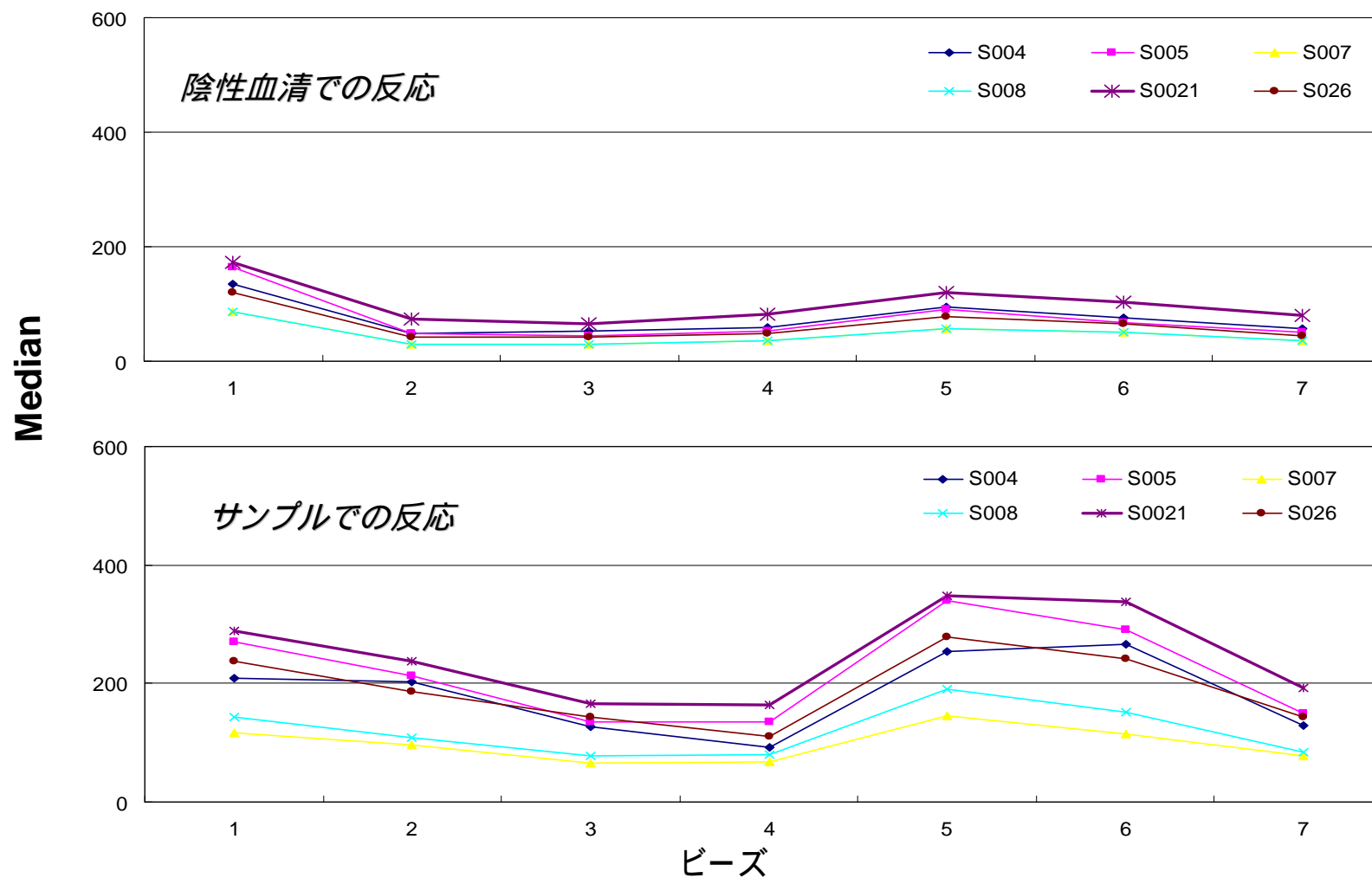


# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1903)



SH1903の測定に用いたPRA の35ビーズのうち、施設間の一致率が低かった10種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

# 一致率が低いビーズでの反応性の比較 (SH1904)

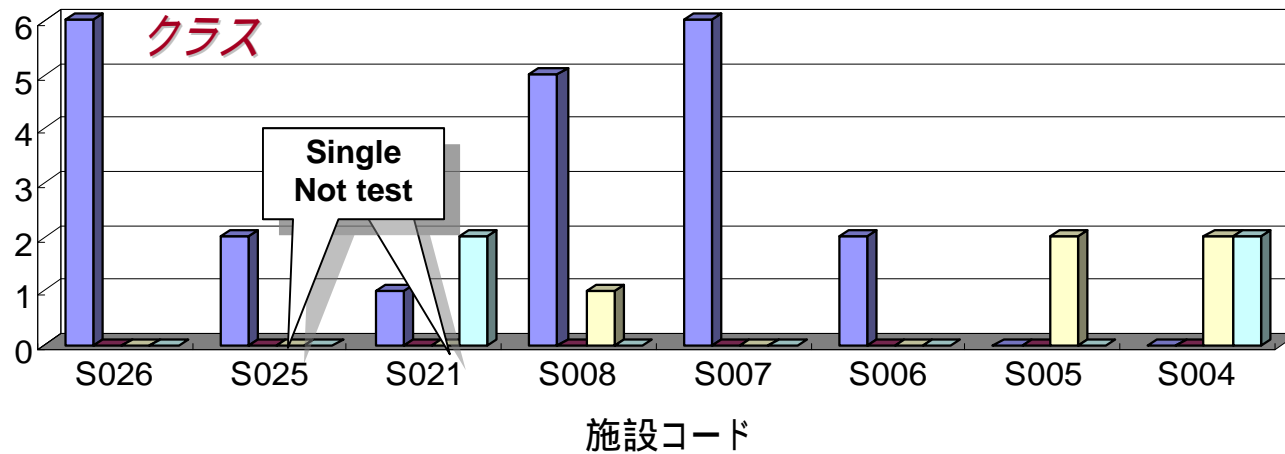
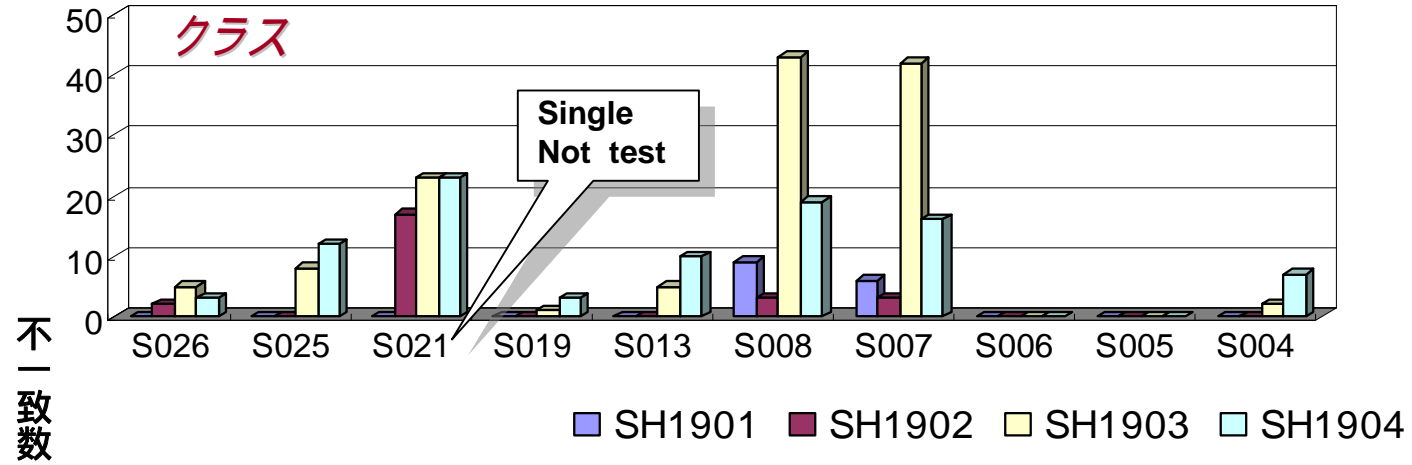


SH1904の測定に用いたPRA の35ビーズのうち、施設間の一貫率が低かった7種類のビーズについて、陰性血清およびサンプルでのMedianを比較した。

# HLA判定結果の比較

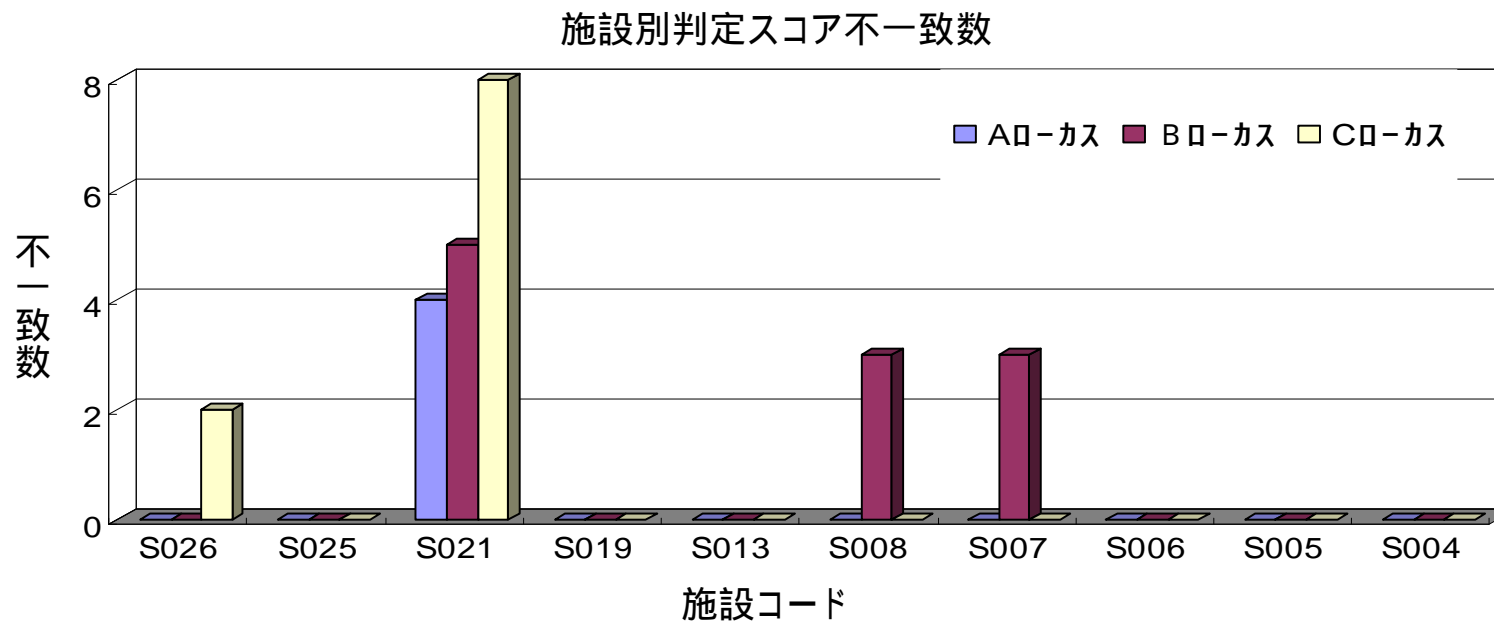
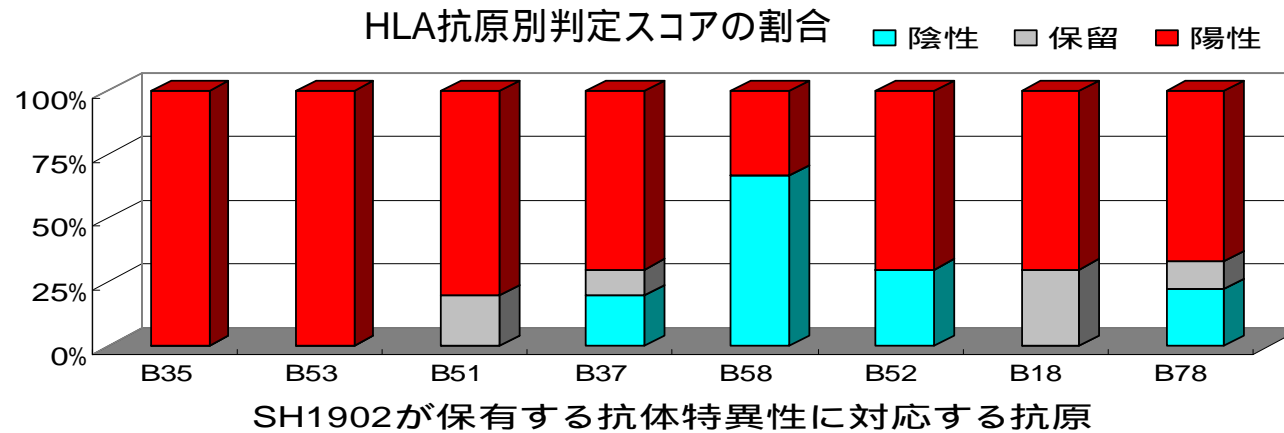
- HLA抗体判定結果記入表のスコア(判定スコア)の比較に焦点を絞って解析を行った。
- 全ての抗原について各施設が出した判定スコアの割合を棒グラフで表し、その不一致率が高い抗原のみを抽出してスライドに表した。
- 自施設の出した判定スコアが全体の20%以下であった場合を不一致と定義し、施設に偏りがあるかを確認した。
- また不一致率が高い抗原について各施設でのSingle Antigenの反応性を比較し、不一致となった原因検証の一例とした。
- またグラフ中の折れ線はキットのLot毎に色分けし、マーカーは施設毎に分別した。

# 施設別判定スコア不一致数

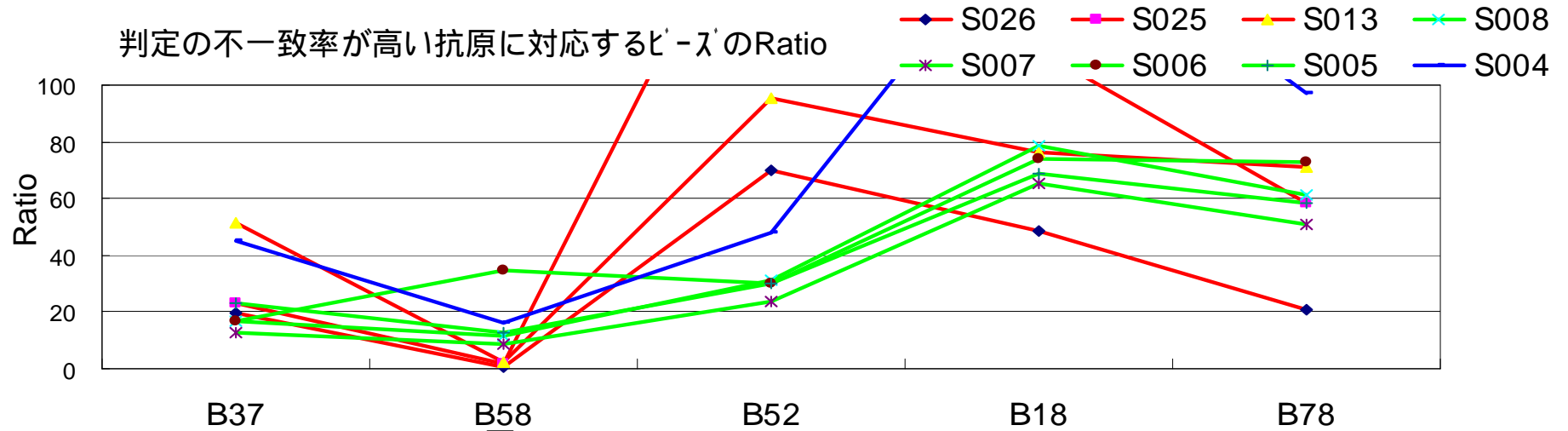


抗原別判定スコアが0あるいは未記入であったものはこの解析から除外した。

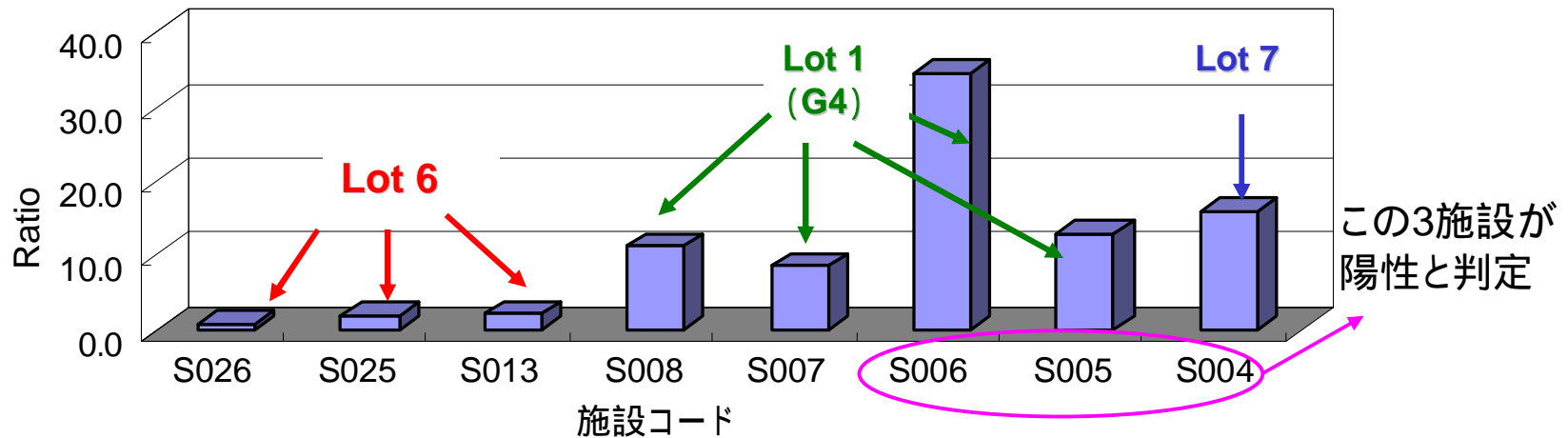
# 判定結果不一致原因の検証 (SH1902:クラス)



# 判定結果不一致原因の検証 (SH1902:クラス)

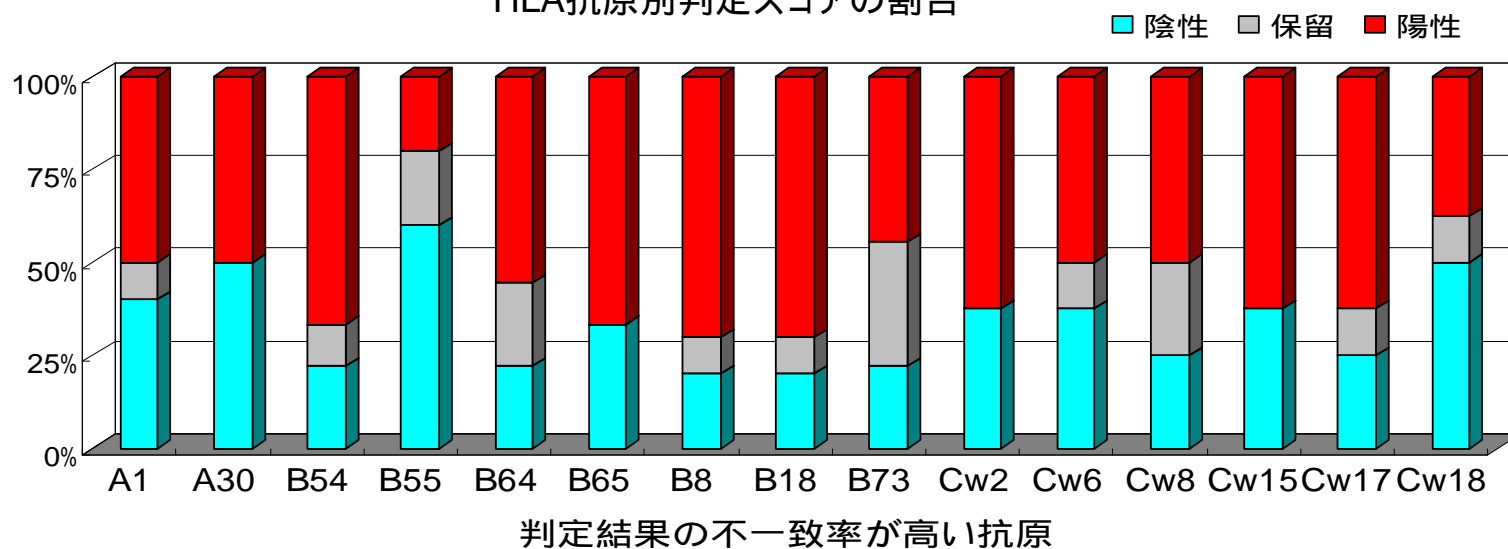


施設別 B\*5801 ヒートマップのRatio

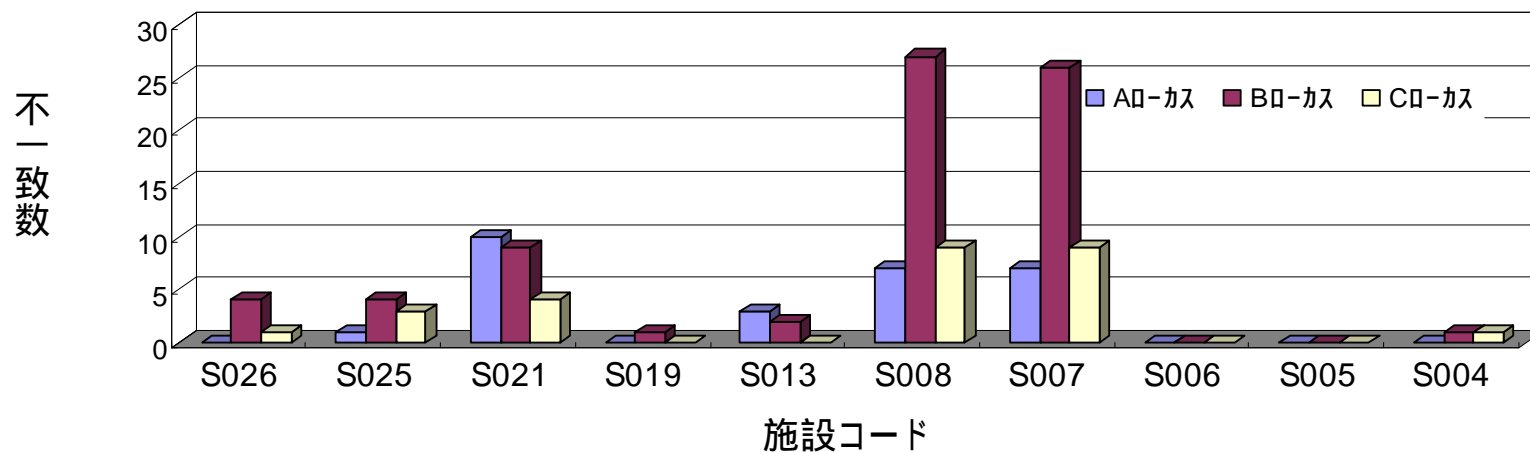


# 判定結果不一致原因の検証 (SH1903:クラス)

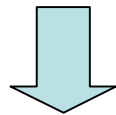
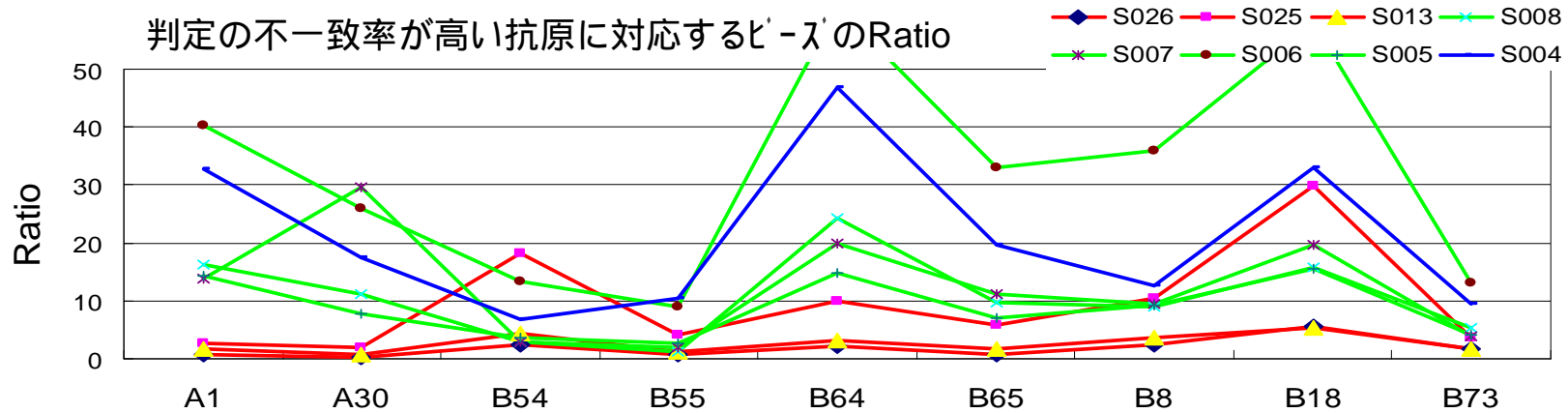
HLA抗原別判定スコアの割合



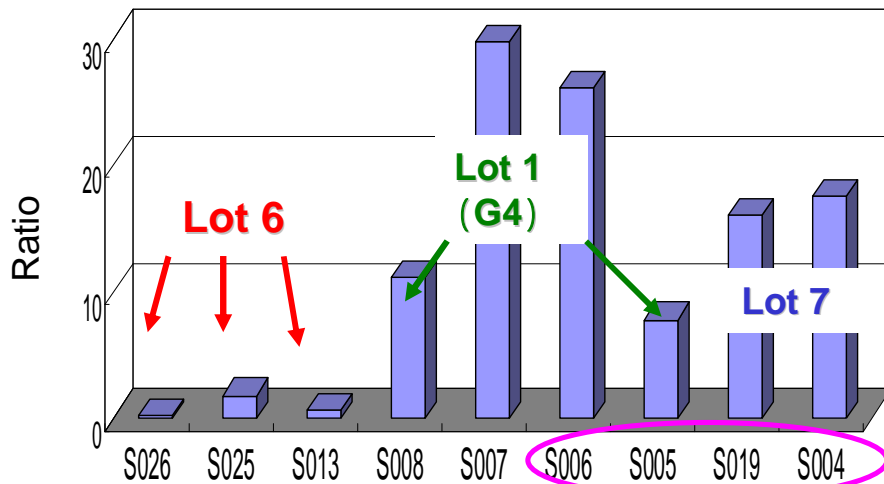
施設別判定スコア不一致数



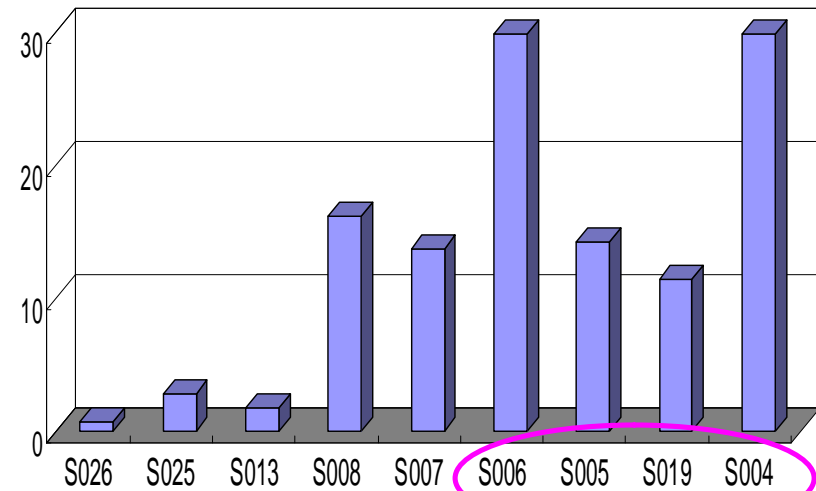
# 判定結果不一致原因の検証 (SH1903:クラス)



施設別 A\*0101 ピースのRatio



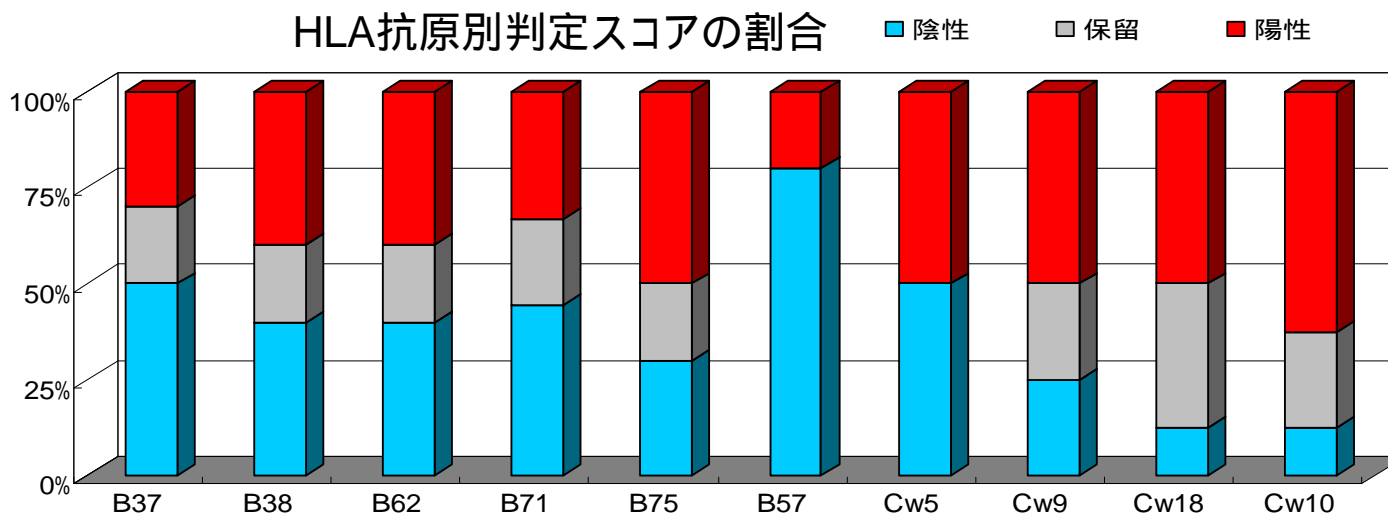
施設別 A\*3001 ピースのRatio



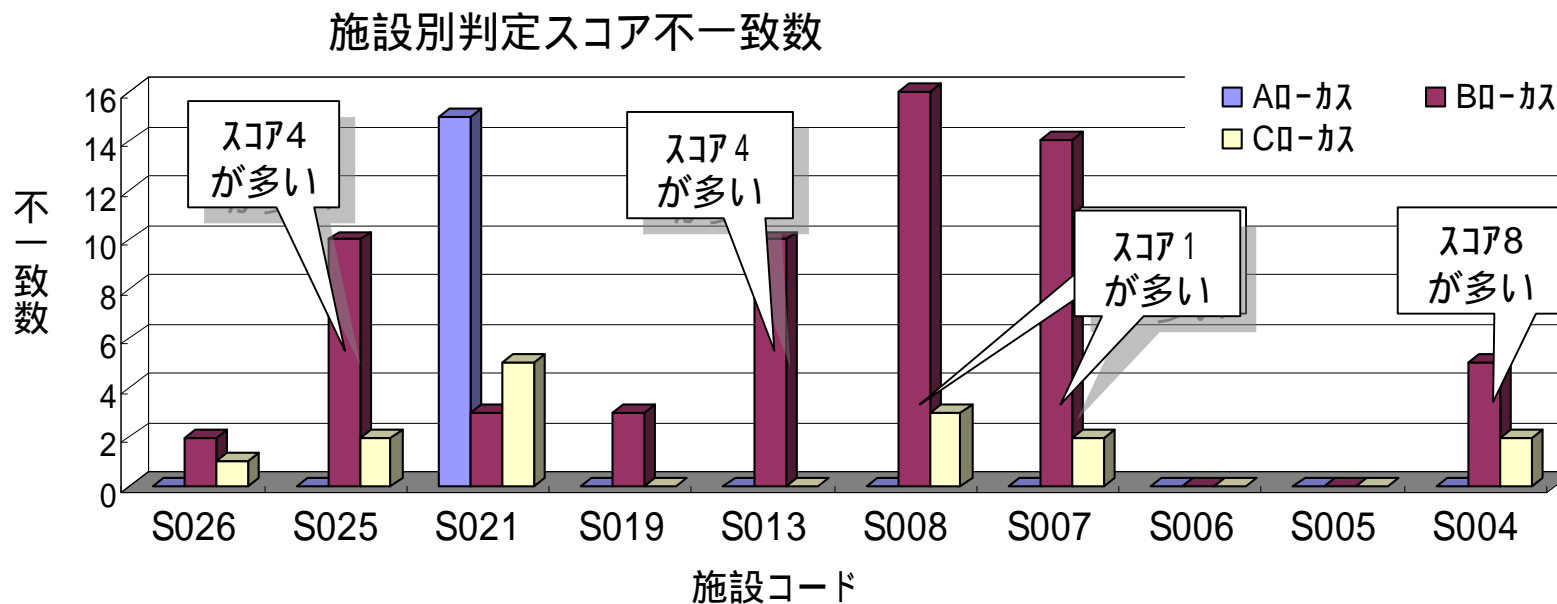
この4施設が陽性と判定



# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)

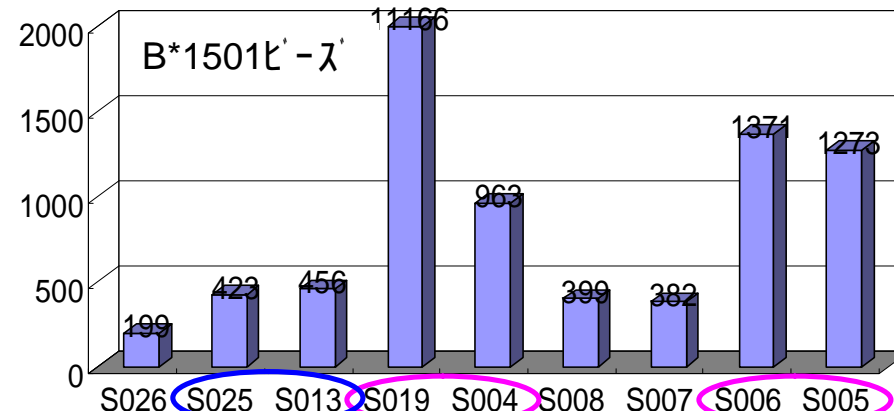
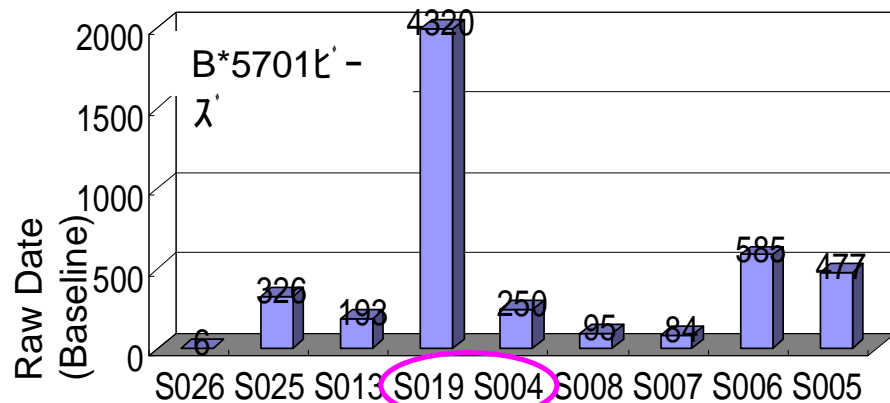
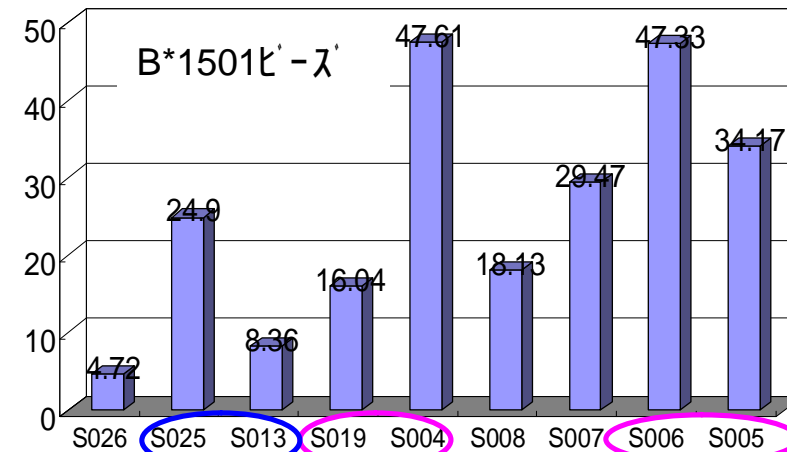
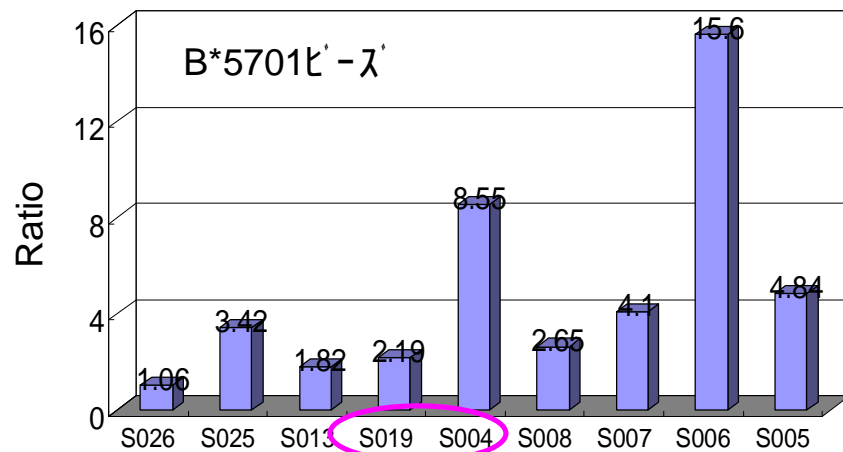


判定結果の不一致率が高い抗原



# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)

判定の不一致率が高い抗原に対応する'ス'のRatio とRaw Dateの比較



施設コード

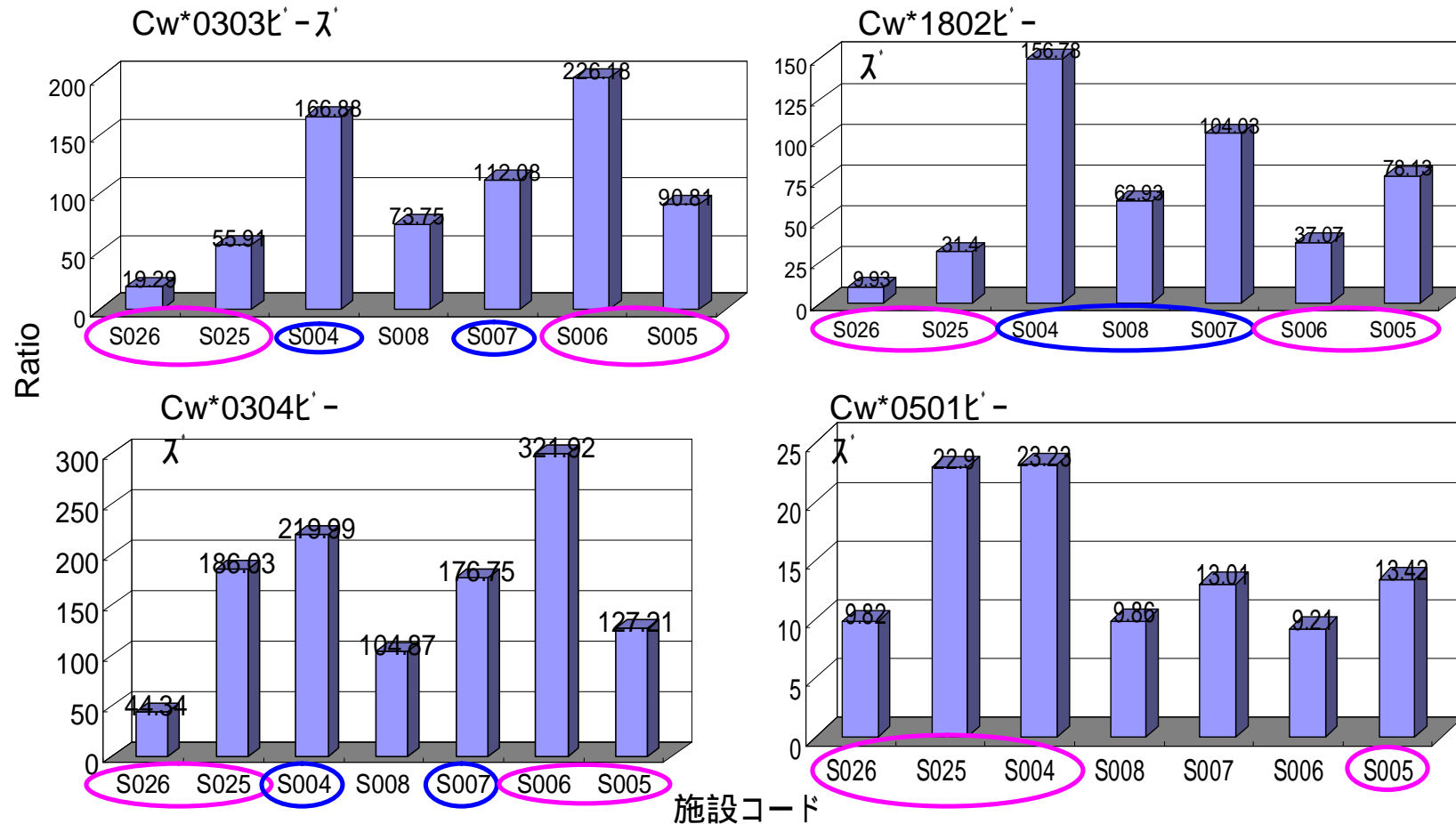
判定スコア8

判定スコア4

囲み線無しはスコア1

# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)

判定の不一致率が高い抗原に対応する $\beta$ - $\lambda$ 'のRatioの比較

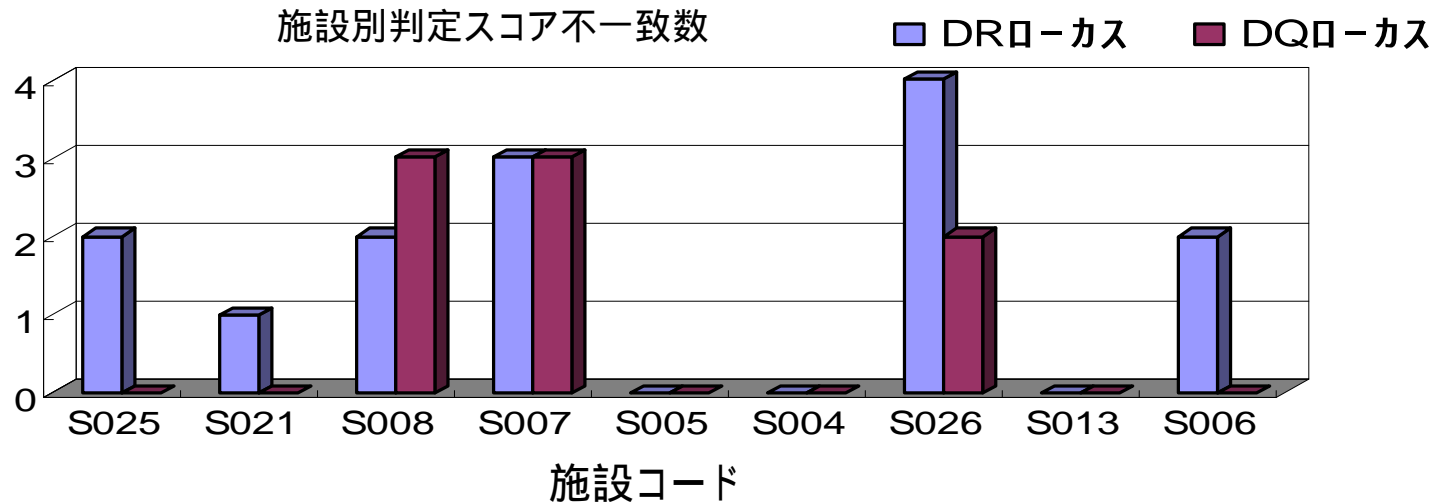
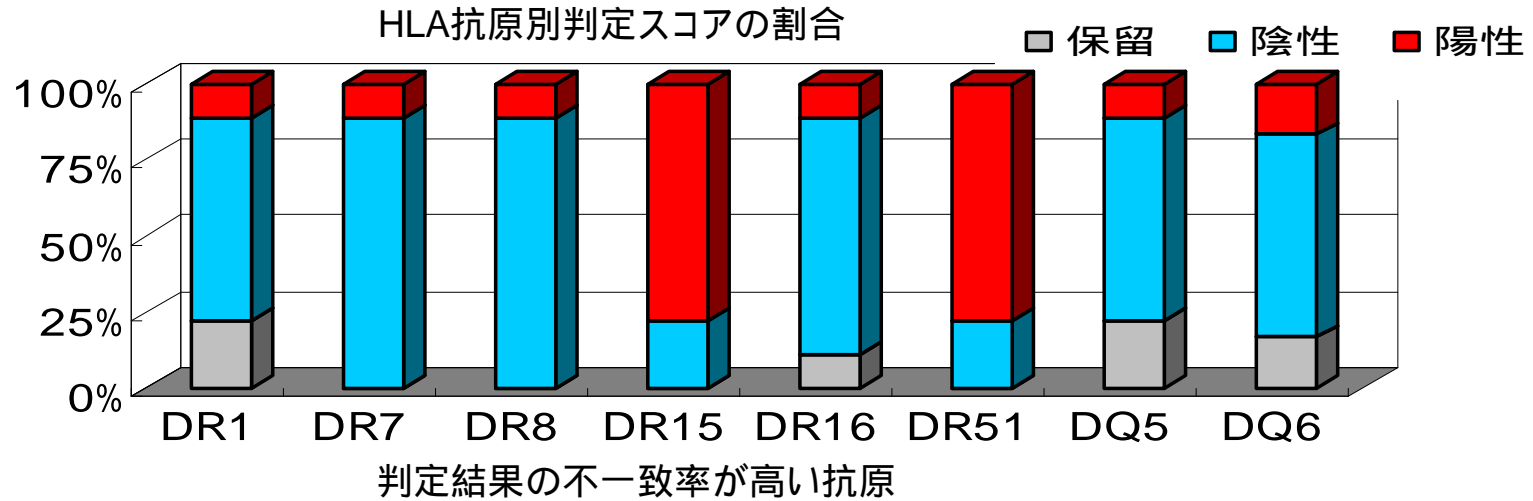


判定スコア 8

判定スコア 4

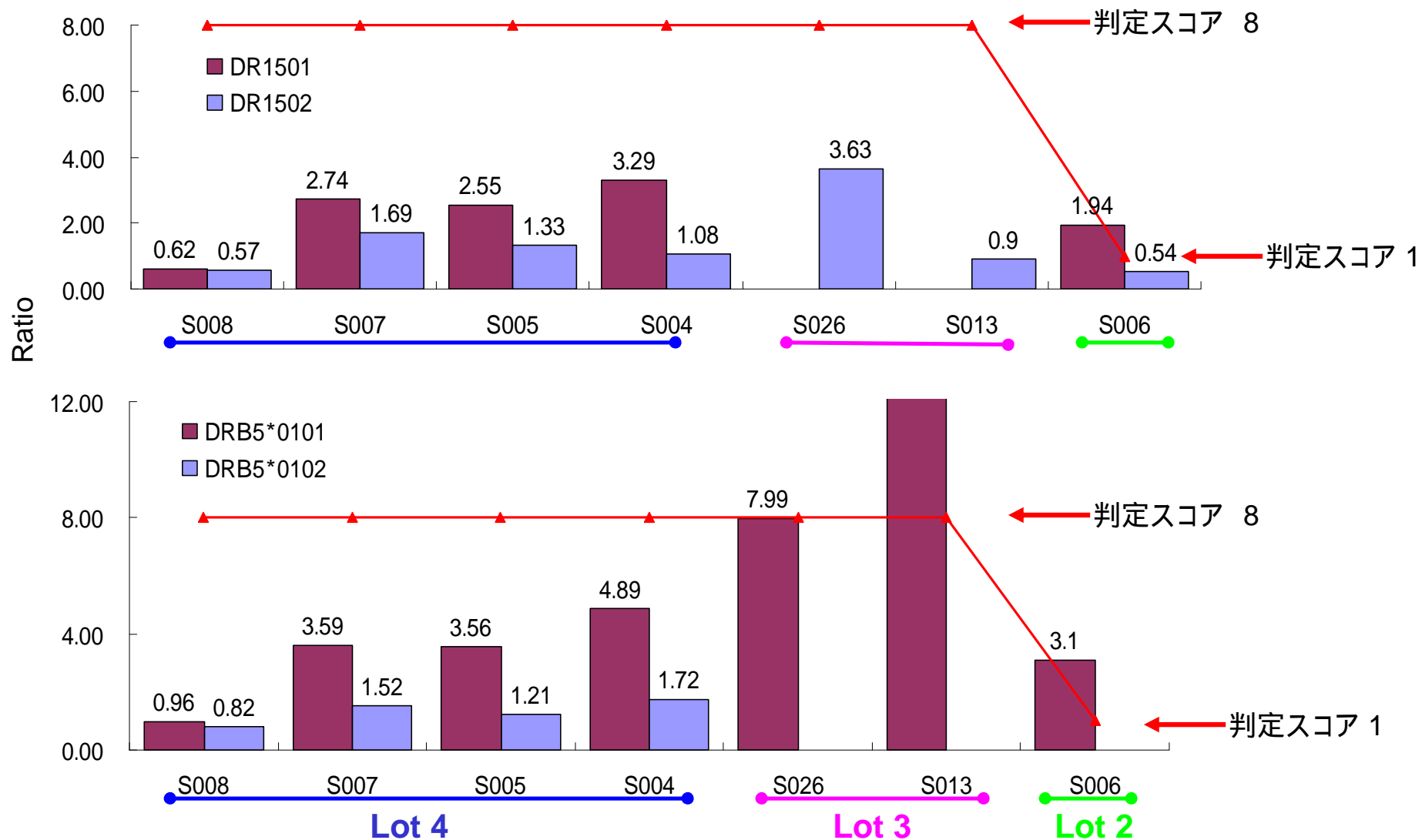
囲み線無しはスコア1

# 判定結果不一致原因の検証 (SH1901:クラス)

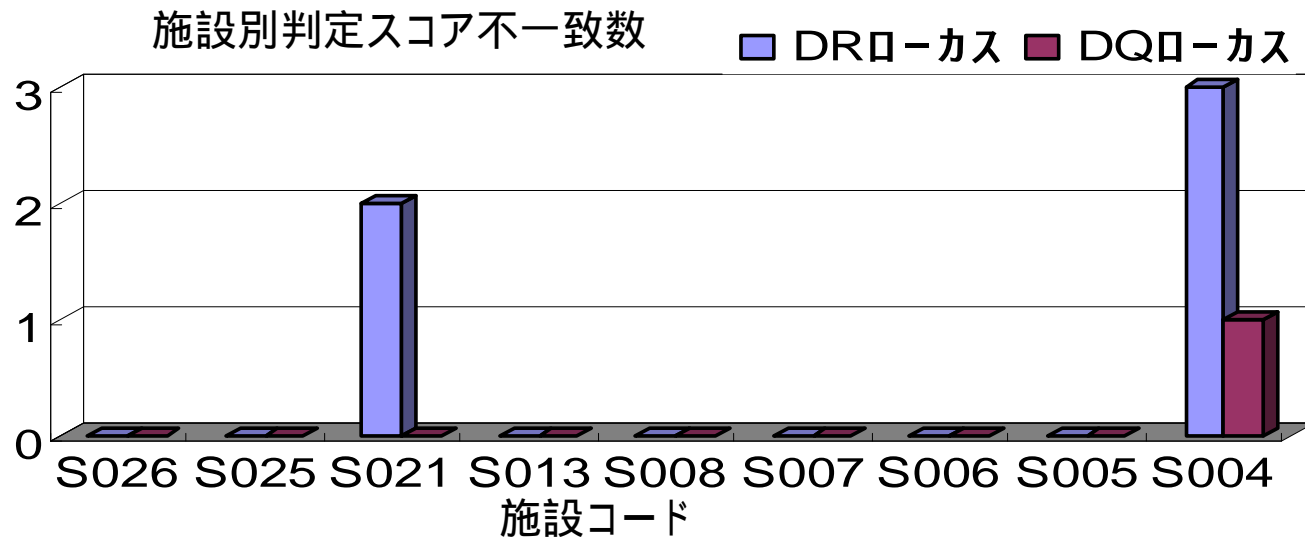
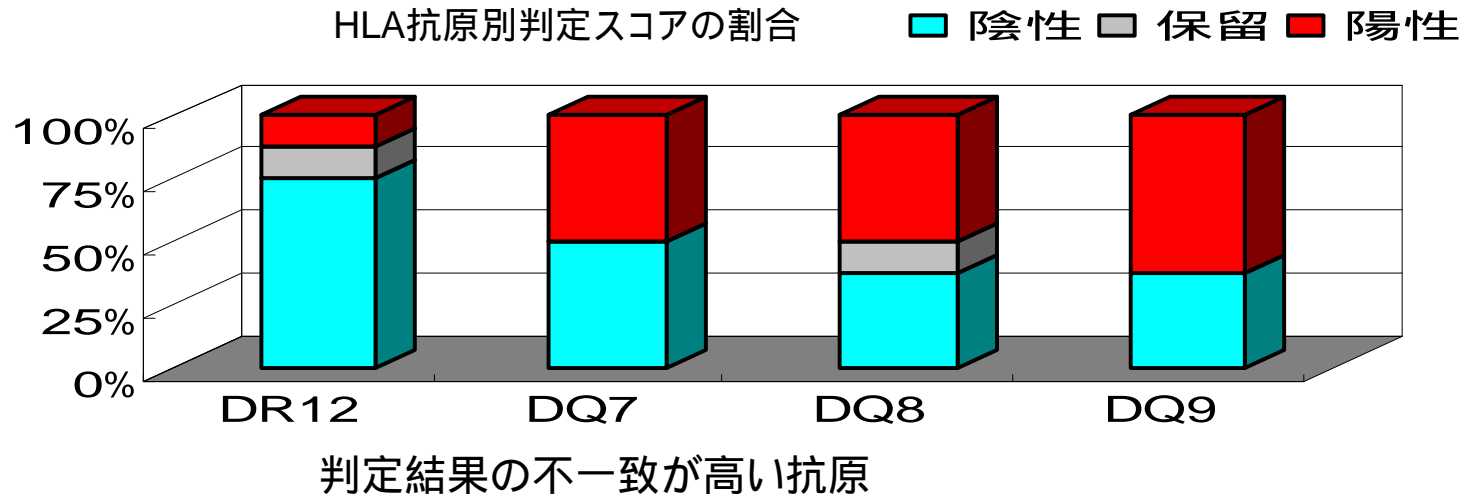


# 判定結果不一致原因の検証 (SH1901:クラス)

判定スコアが不一致であった抗原に対応するビーズのRatioの比較

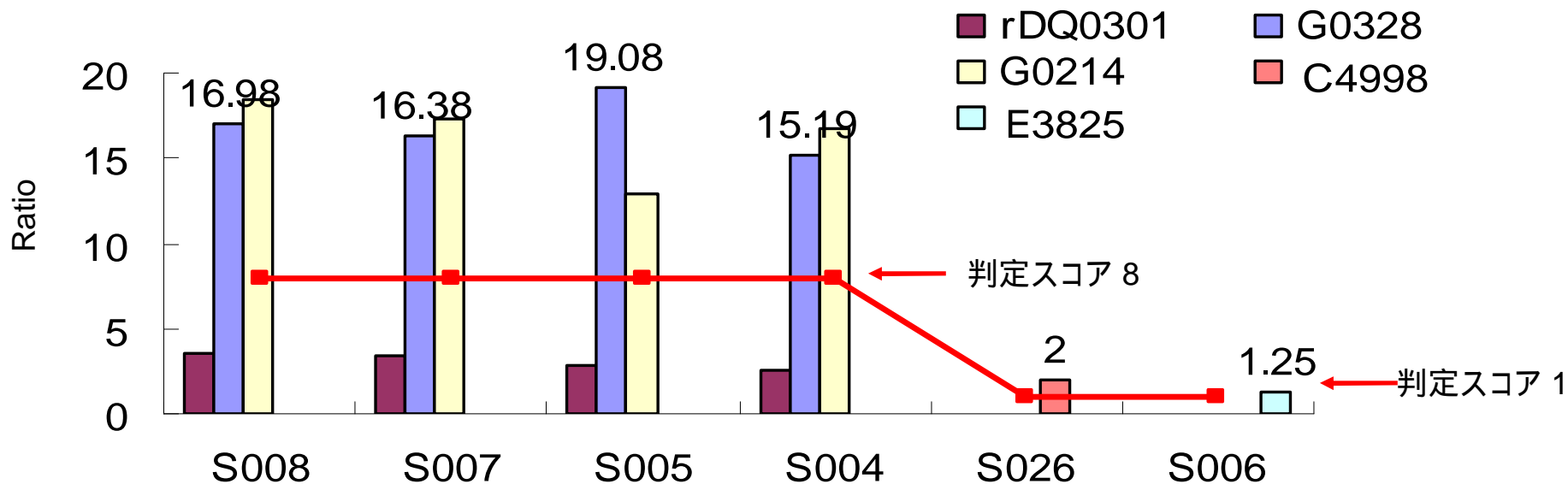


# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)



# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)

DQ7抗原に対応するビーズのRatioと判定スコア

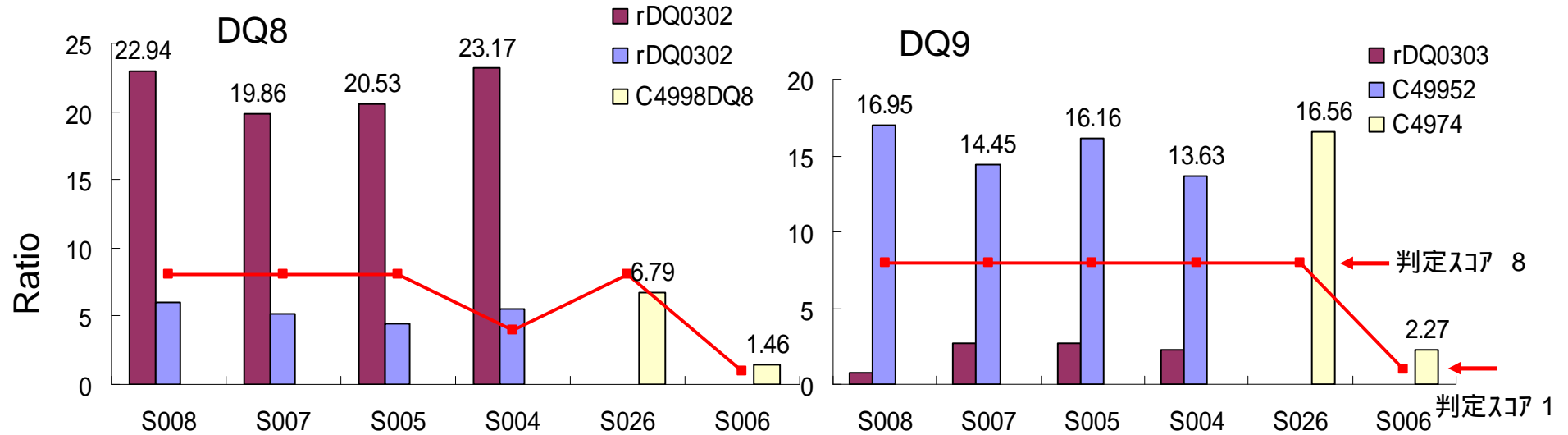


DQ7抗原に対応するビーズのID番号とアレルタイプ

Lot	ID	DQB1	DQA1	使用施設
4	rDQ0301	*0301	*0301	S008,S007, S005,S004
	G0328DQ0301	*0301	*0303/0505	
	G0214DQ0301	*0301	*0601	
3	C4998DQ7	*0301	*05	S026
2	E3825DQ7	*0301	*0401/0505	S006

# 判定結果不一致原因の検証 (SH1904:クラス)

各抗原に対応するピーズのRatioと判定スコア



各抗原に対応するピーズのID番号とアリルタイプ

DQ8

Lot	ID	DQB1	DQA1
4	rDQ0302	*0302	*0101
	rDQ0302	*0302	*0301
3	C4998DQ8	*0302	*03
2	C4998DQ9	*0302	*03

DQ9

Lot	ID	DQB1	DQA1
4	rDQ0303	*0303	*0101
	C49952DQ0303	*0303	*0201
3	C4974DQ9	*0303	*03
2	C4974DQ9	*0303	*03



## IgM性抗体の検出についての解析

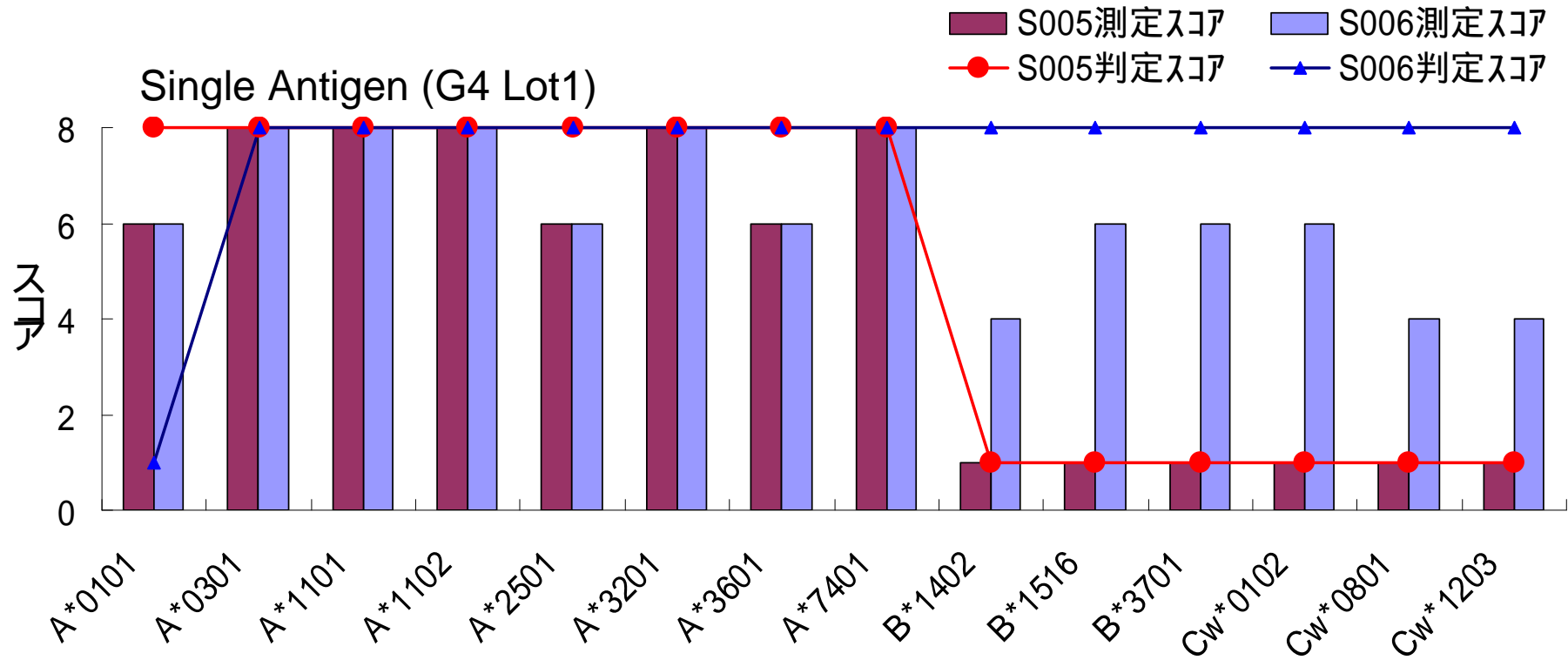
- 検査を実施した2施設間の比較のみに留まった。
- 比較対象は両施設が共通して実施していたSingle Antigen (G4:Lot1)の測定データと結果記入表の判定スコアとした。

# IgM抗体検出方法と結果の比較

Lab	クラス				クラス			
	SH 1901	SH 1902	SH 1903	SH 1904	SH 1901	SH 1902	SH 1903	SH 1904
S005	8	1	8	8	1	1	1	8
S006	8	1	8	8	1	1	1	1

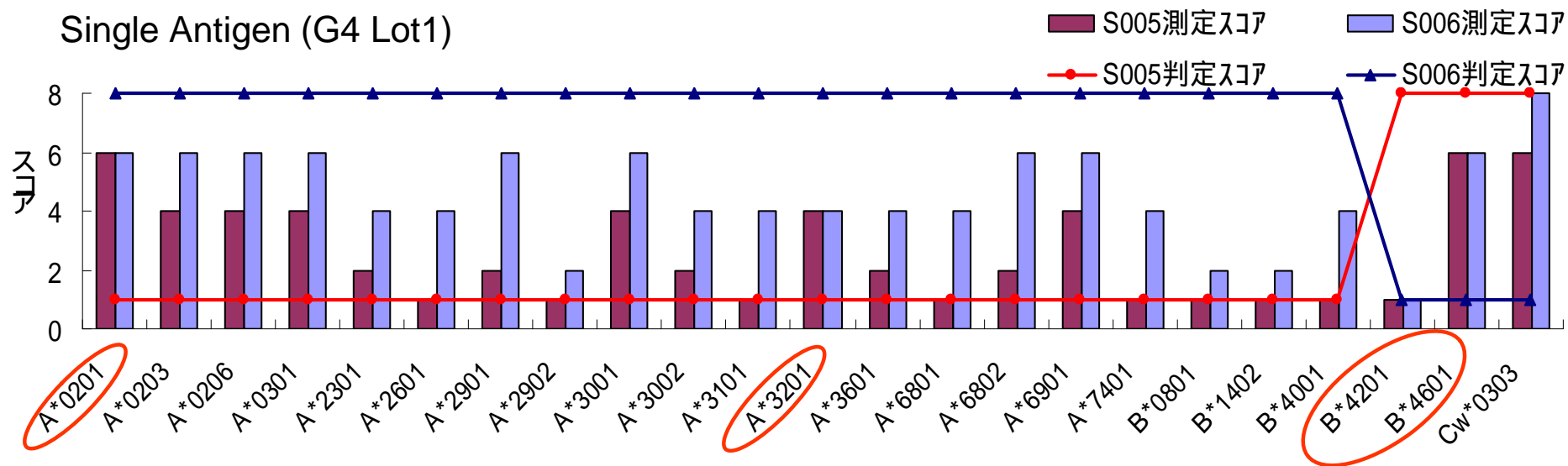
Lab	検査方法	2次抗体のメーカー
S005	Mix,PRA,Single	Serotec
S006	Single	Jackson

# 測定スコアと判定スコアの比較 (SH1901:クラス)

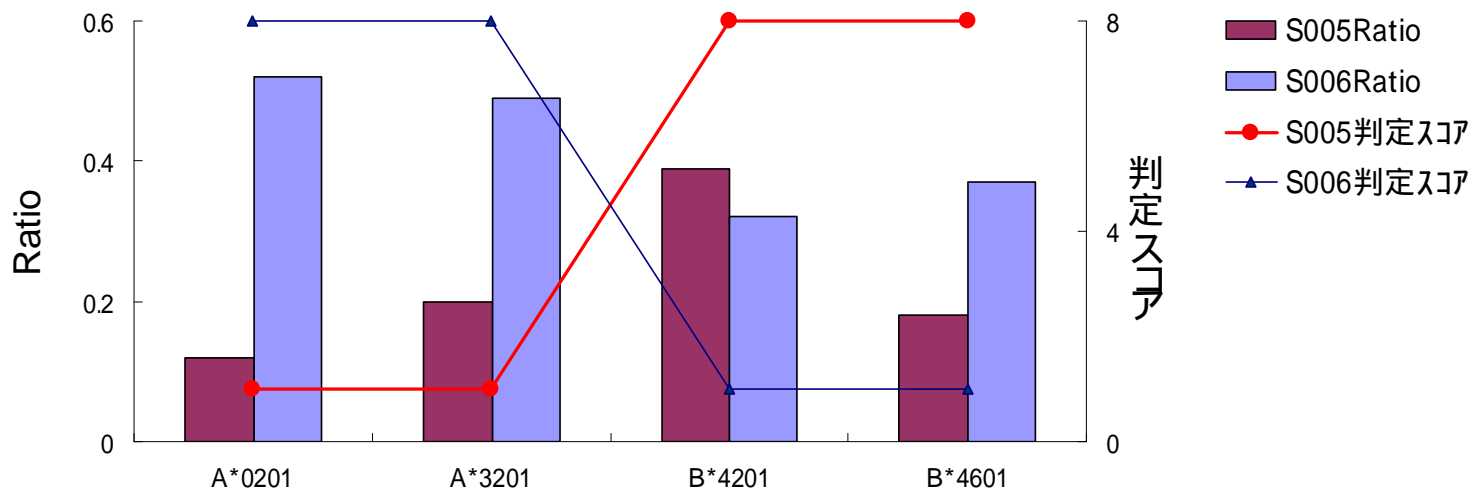


各抗原に対応するビースのアリル

# 測定スコアと判定スコアの比較 (SH1903:クラス)



測定スコアが同じ値で判定スコアに不一致がある抗原に対応するビーズのRatioの比較



## まとめ

- *Mixed*

解析ソフトの自動判定結果の解釈が重要。

- *PRA*

反応性に施設間差がみられた。

自施設のプロトコール、LUMINEXのメンテナンス、  
試薬の管理方法等の見直しが必要。

- *Single Antigen*

Lotによる反応性の差異を認めた。

自施設でのLot管理も重要。

得られた測定値から最終的な結果判断の際に  
指標となるデータ集積が必要。

## 標準化に向けての課題

- **判定基準の統一**

判定時に参照する値 (Ratio, Rxn, Raw Date等) の重要度を統一する。

cut off値設定のルールを統一する。

- **IgM性抗体の検出**

プロトコールの確認、判定の基準の統一を  
図った上で参加施設を増やして再検討する  
必要があると考える。