

2015年9月12日(土曜)

第43回国臨協関信支部学会 分科会

緊急検査
(輸血部門)

国立がん研究センター東病院
病理・臨床検査科
吉田 茂久

赤血球型検査(赤血球系)ガイドライン(改訂1版)

2014年12月に日本輸血・細胞治療学会が、11年ぶりに「赤血球型検査(赤血球系)ガイドライン」の改訂を行った。

◎主な改訂内容

- ①ABO血液型検査・RhD血液型検査・交差適合試験を新規項目として追加
- ②用語の統一化を実施など
- ③不規則抗体(可能性の高い抗体/否定できない抗体)の推測の定義など

日本輸血細胞治療学会ホームページ
指針／ガイドライン

■検査に対するガイドライン

<http://yuketsu.jstmct.or.jp/medical/guidelines/>



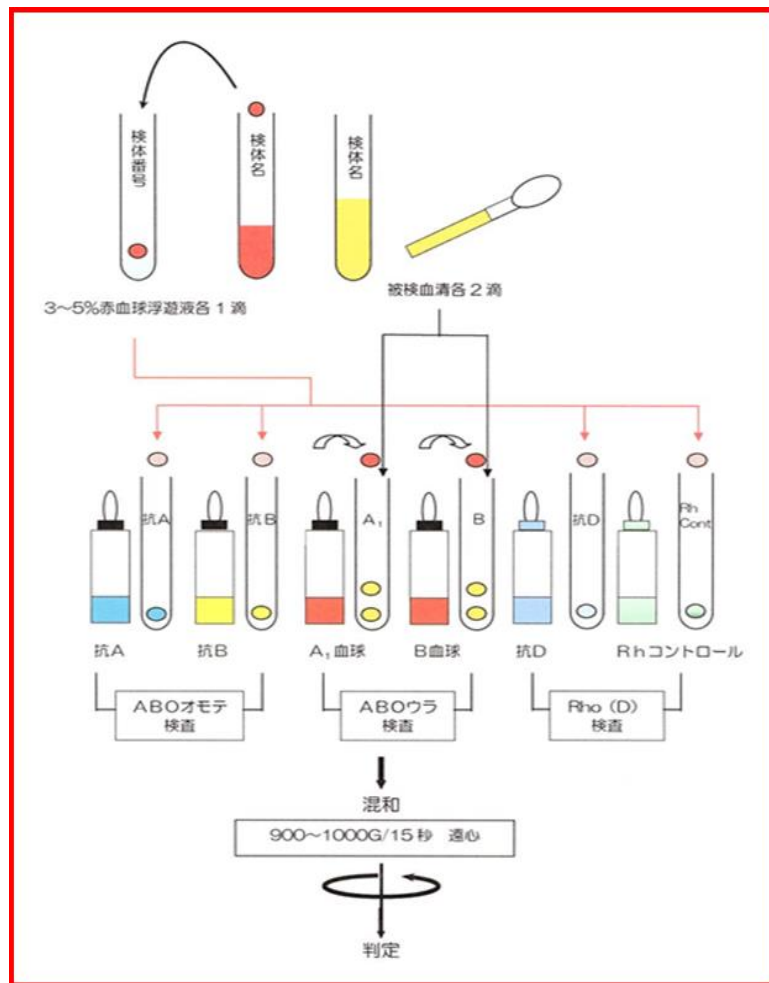
患者検体について

1. 患者検体は、**血漿(EDTA血など)**や**血清(凝固血)**を使用できる。
2. 輸血や妊娠など赤血球による免疫応答(一次・二次応答など)の結果、抗体が産生されるため、**不規則抗体スクリーニング**及び**交差適合試験用の検体**を採血しなければならない。
3. 連日輸血を受けている患者では、**少なくとも3日毎**に検査用検体の採血を行う。過去3カ月以内に輸血歴あるいは妊娠歴のある患者では**輸血予定に先立つ3日以内を目安**に患者検体を採血する。
4. 実際に輸血された赤血球製剤のセグメントの保管についても**2週間(14日間)冷蔵庫内に保管**する。

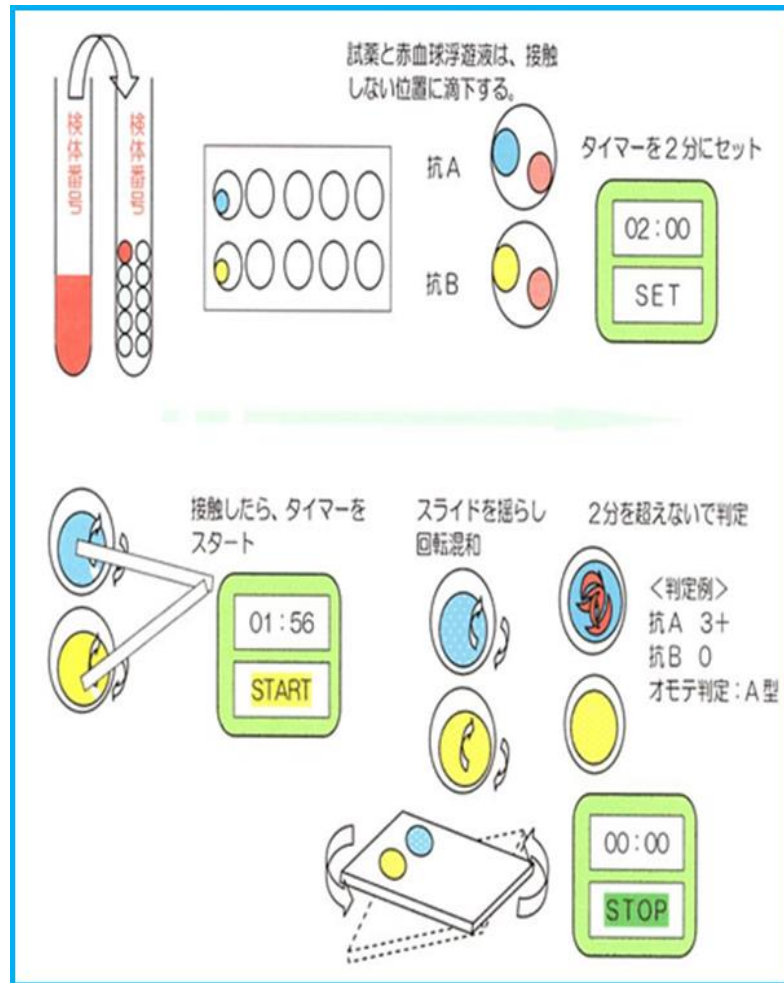


ABO血液型・RhD血液型の標準的検査方法

試験管法(TT法)



スライド法



ABO血液型・RhD血液型検査試薬について

基本的には、「輸血療法の実施に関する指針」に準じている！！

1. 抗体試薬は、厚生労働省から製造販売承認を受けた体外診断薬を用いる
2. 赤血球試薬は、可能な限り市販試薬を使用する。
自家調整試薬を用いる場合は、十分な品質管理を行う。
3. 精度管理を行い、試薬の性能や検査プロセスの有効性を確認する。
コントロールに期待する結果が得られない場合は、原因を究明する
4. ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体(IgM ・ IgG)が単独・ブレンドしたものなど組成の異なる数種類の試薬がある。
IgMモノクローナル抗体単独の試薬をRhD陰性確認試験に用いることができない
5. Rhコントロール(陰性対象)は使用する抗D試薬の添付文章に指定されたものを用いる

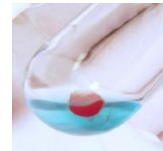


ABO血液型検査の判定結果

オモテ試験			ウラ試験			総合判定
抗A	抗B	判定	A1血球	B血球	判定	
+	—	A	—	+	A	A
—	+	B	+	—	B	B
—	—	O	+	+	O	O
+	+	AB	—	—	AB	AB

【 判 定 】

- オモテ検査とウラ検査の結果が一致している場合に血液型を判定できる
 - オモテ検査で凝集の強さが4+以外は精査を行う
 - ウラ検査の凝集の強さは、患者により異なるが、1+以外は精査を行う
- 部分凝集(MF)を認めた場合は、患者情報の収集と追加試験
(スライド法など)を行い原因を追及する
 - 異型輸血
 - 造血幹細胞移植後の生着過程
 - 血液疾患などによる後天的な抗原の異常
 - 亜型の一部(A₃, B₃)
 - キメラ・モザイク(遺伝性)
 - 新生児(一部)
- オモテ検査とウラ検査が不一致な場合は、その原因を精査する



RhD血液型検査の判定結果

TT法		判定結果	Rh陰性確認試験		判定結果
抗D	Rh-Control		抗D	Rh-Control	
+	—	D陽性	NT	NT	D陽性
—	—	判定保留	+	—	WeakD*
—	—	判定保留	—	—	D陰性


- 1.抗D試薬が直後判定が陽性の場合は、D陽性と判定する
但し 最終判定は試薬貼付文章に従う
- 2.抗D試薬が直後判定が陰性の場合は、RhD陰性確認試験を行う
但し、RhD陰性確認試験は必須ではなく、この患者をD陰性として取扱う

オモテ検査・ウラ検査不一致時の対応

まずは、**技術的、事務的な誤りが無いのか確認する！！**

- ①再検査(必要に応じて再採血を依頼する)
- ②機器や手技などの精度管理
- ③検体の確認(溶血・フィブリン析出など)(注:血清を用いた場合)
- ④検査技師2名以上で確認を行う。(思い込みの防止など)

次に、**患者情報の確認作業をする！！**

- ①年齢・性別・家系調査(必要に応じて)
 - ②妊娠歴・輸血歴・移植歴・献血歴(献血カード)
 - ③病歴・疾患名
 - ④検査歴(生化学・血算・血液像など)
- 

オモテ検査に異常反応と対応方法

	種 類	考えられる状況	追加検査
オモテ検査	反応が無い 又は減弱している	亜型	レクチン・吸着解離・転移酵素測定など
		疾患による一時的な抗原量の低下	レクチン・被凝集価・転移酵素測定など
		型物質の異常増加による中和	レクチン、被検血球を生理食塩液で3回程洗浄後に再検など
	部分凝集	亜型	レクチン・被凝集価・転移酵素測定など
		キメラ・モザイク	レクチン・被凝集価・転移酵素測定、唾液中の型物質など
		異型輸血・造血幹細胞移植	レクチン・被凝集価・転移酵素活性・唾液中の型物質など
	異常な凝集 反応を認める	汎血球凝集反応	レクチン、潜在抗原・修飾抗原を含まないモノクローナル抗体試薬を用いて再検査
		後天性B(Acquired B)	レクチン、被凝集価、転移酵素測定、唾液中の型物質測定
		冷式自己抗体の感作(抗Iなど)	予備加温法、不規則抗体検査、自己赤血球による吸収など

対応方法

1. 生理食塩液で1回以上洗浄操作を行った患者赤血球を用いて再検査を実施
2. 部分凝集を認める場合は、スライド法などで再検査を行う
3. 寒冷凝集素病を疑う場合は、予備加温と37℃に加温した生理食塩液で洗浄操作(必要に応じて繰り返し)を行う
4. 直接抗グロブリン試験を行う
5. 抗体解離試験(グリシン塩酸/EDTAによる解離法又はクロロキンによる解離法)を行い、再度血液型検査を行う

ウラ検査に異常反応と対応方法

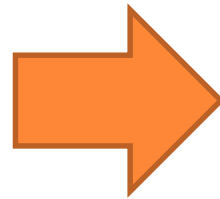
	種 類	考えられる状況	追加検査
ウラ検査	反応が無い又は減弱している	新生児・高齢者	血清免疫グロブリン値の測定(低値)、ウラ検査(血漿量を増やす)
		低・無 γ グロブリン血症など	ウラ検査(反応時間の延長)など
	異常な凝集反応を認める	亜型(A_3 , A_X で抗Aを保有)	レクチン・転移酵素測定、唾液中の型物質、家系調査など
		冷式不規則抗体(抗M・抗N)	不規則抗体検査、予備加温法、対応抗原陰性血で吸収操作など
		冷式自己抗体、寒冷凝集素価(高値)	不規則抗体検査、予備加温法自己赤血球による吸収など
		連鎖形成	総蛋白値(高値)、顕微鏡確認、生理食塩液置換法など

ウラ検査に異常な反応を認めた場合の対応

〈1:反応時間の延長〉

直後判定後 室温で5～15分間反応させ再度判定する

血球試薬	直後判定
A ₁ 血球	0
B血球	0
O血球	0

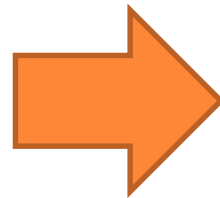


血球試薬	5～15分後 再度判定
A ₁ 血球	0
B血球	2+
O血球	0

〈2:血漿量(血清)を増やす〉

血漿量(血清)を2滴から4滴(倍量)に増やして直後判定

血球試薬	直後判定
A ₁ 血球	0
B血球	0
O血球	0

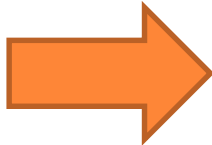


血球試薬	4滴
A ₁ 血球	0
B血球	2+
O血球	0



ウラ検査に異常反応を認めた場合の対応

〈3:反応温度の変更〉

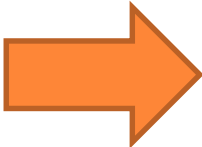
血球試薬	室温(25℃)		血球試薬	4～5℃
A ₁ 血球	0		A ₁ 血球	0
B血球	0		B血球	2+
O血球	0		O血球	0

血漿(血清)中の抗A, 抗Bは、**低温域で反応性が強くなる**
反応温度を下げすぎると冷式自己抗体の影響を受けやすくなる
必ず**O型血球を追加して陰性であることを確認する**



ウラ検査に異常反応を認めた場合の対応

〈4:O型血球を用いて冷式自己抗体を吸収操作〉

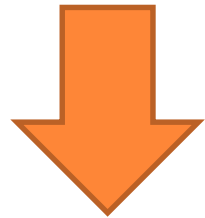
血球試薬	室温(25℃)	20℃	4~5℃		血球試薬	4~5℃
A ₁ 血球	0	0	1+		A ₁ 血球	0
B血球	0	0	2+		B血球	2+
O血球	0	0	1+		O血球	0

○型血球沈査:血漿(血清)を1:1で混和する
4℃で60分反応させた後、冷却遠心機で
血漿(血清)を分離する
冷式自己抗体が吸収必要に応じて吸収操作を
繰り返す

ウラ検査に異常反応を認めた場合の対応

〈5:低温反応性の不規則抗体の存在を疑う場合〉

低温反応性の不規則抗体の存在(例:抗M、抗P1、抗Le^a等)を確認するために**不規則抗体スクリーニング検査**を行う。



不規則抗体スクリーニング血球(TB法)			
1	2	3	自己
0	3+	0	0

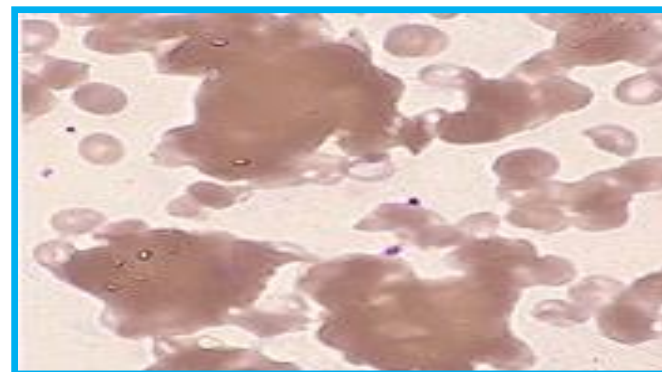
追加検査

- ①**対応抗原の陰性血球試薬**を用いてウラ検査を行う
- ②**対応抗原の陽性血球**(例:M+O型血球)**を用いて不規則抗体**(例:抗M)**を吸収操作**を行いウラ検査を行う
- ③抗M、抗Nなどの場合は**酵素液(Broなど)**を加えて抗原を失活させる
- ④**型物質試薬(P1・Le)**を用いて**中和操作**を行い、ウラ検査を行う
- ⑤0.01Mの**DTT又は2ME**などで**免疫グロブリンの破壊**して再検を行う

ウラ検査に異常な反応を認めた場合の対応

〈6:寒冷凝集素の存在を疑う場合の対処方法〉

オモテ検査			ウラ検査			総合判定
抗A	抗B	判定	A	B	判定	
0	4+	B型	4+	3+	O型	保留



不規則抗体スクリーニング血球 (TB法)			
1	2	3	自己
3+	3+	3+	3+

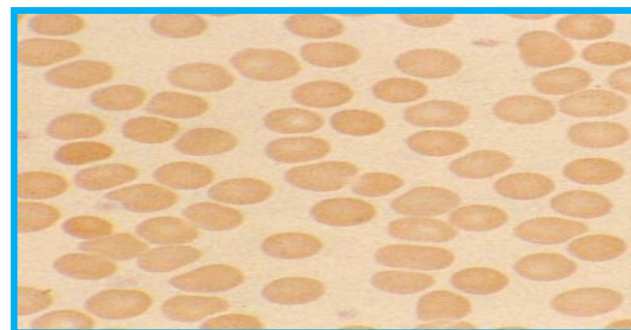


不規則抗体スクリーニング血球 (TB法)			
1	2	3	自己
0	0	0	0

オモテ検査			ウラ検査			総合判定
抗A	抗B	判定	A1	B	判定	
0	4+	B型	4+	0	B型	B型

手技:

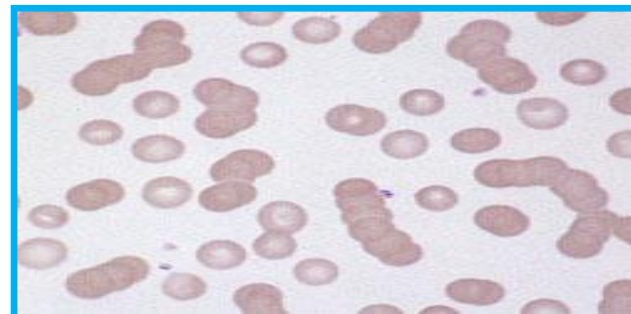
37℃恒温槽で15～30分
予備加温後【最大60分程度】
の凝集塊の消失を確認する



ウラ検査に異常な反応を認めた場合の対応

〈7:連銭形成の存在を疑う場合の対処方法〉

オモテ検査			ウラ検査			総合判定
抗A	抗B	判定	A	B	判定	
0	4+	B型	4+	3+	O型	保留



不規則抗体スクリーニング血球 (TB法)			
1	2	3	自己
3+	3+	3+	3+



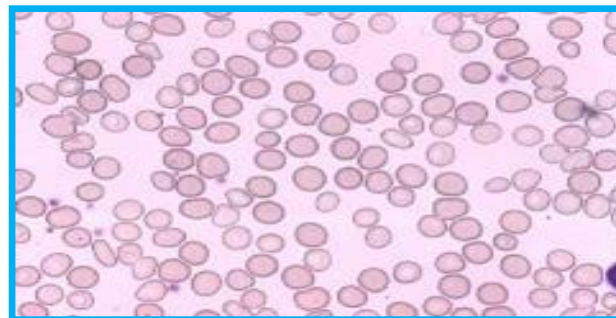
不規則抗体スクリーニング血球 (TB法)			
1	2	3	自己
3+	3+	3+	3+

オモテ検査			ウラ検査			総合判定
抗A	抗B	判定	A1	B	判定	
0	4+	B型	4+	0	B型	B型

手技:

- ① 予備加温しても変化なし
- ② 顕微鏡で連銭像を確認
- ③ 生理食塩液置換法

判定後再遠心して上清を除き生理食塩液を加えて凝集の消失を確認する。



交差適合試験について

交差適合試験とは

不適合輸血を防ぐために、ABO血液型の不適合を検出でき、37℃で反応する抗体を検出できる適切な方法

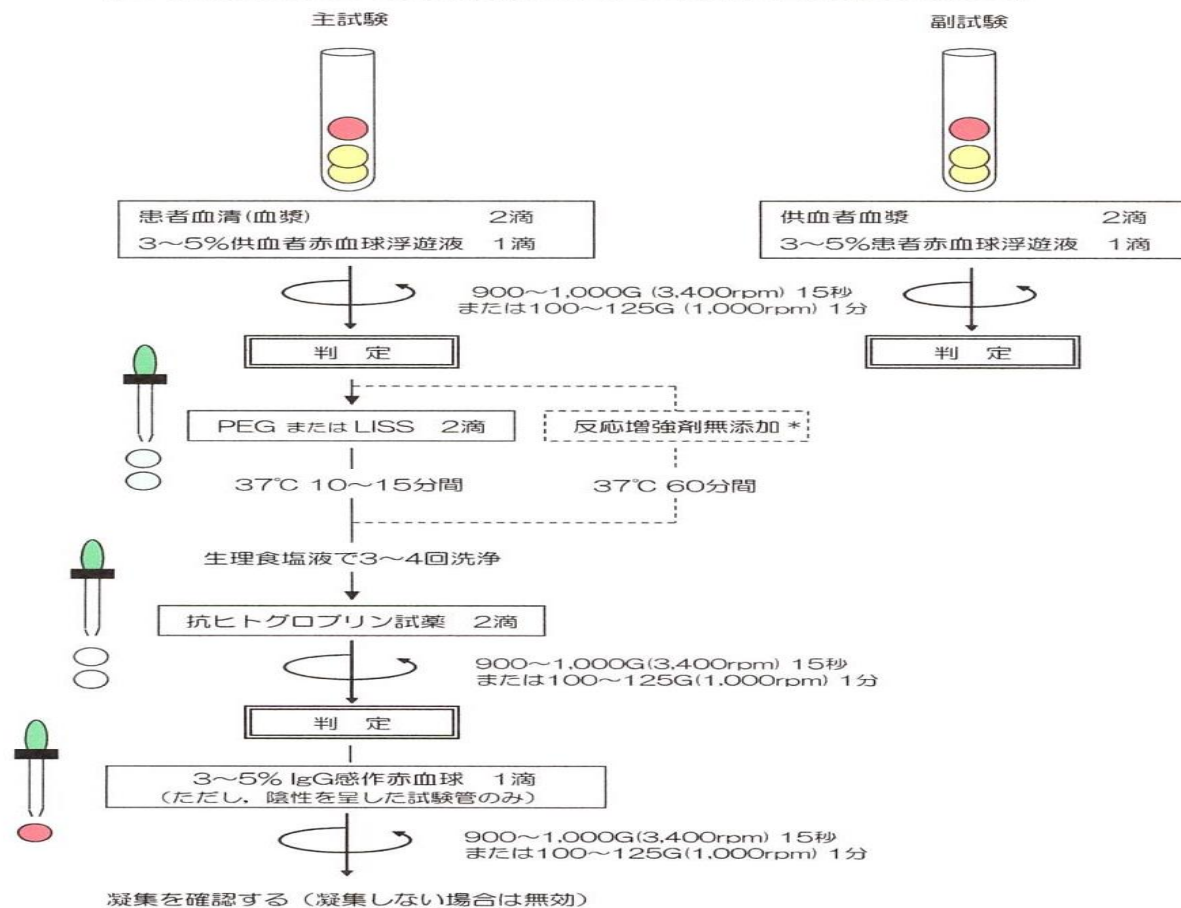
- 1.原則としてABO血液型検査用検体とは異なる時点で採血した輸血予定に先立つ3日以内の検体を用いて検査を行う
- 2.主試験は供血者赤血球の適合性を確認するために実施する
- 3.主試験は臨床的意義のある抗体を検出できる間接抗グロブリン法(IAT法)を含む方法を用いて行う。反応増強剤は、PEG, LISSが望ましい
注意:ABO血液型を確認できる生理食塩液法を実施することが望ましい
- 4.主試験(IAT法を含む)で陽性を示した場合は、必ず不規則抗体スクリーニング検査を行う
- 5.副試験は、患者の血液型が2回以上異なる時点で採血した検体で、二重チェックにより確認されていれば省略できる



交差適合試験の方法について

(3) 交差適合試験

赤血球製剤本数分の主・副試験用試験管を準備し、患者氏名や識別番号を明記する。



PEG : polyethylene glycol, LISS : low-ionic-strength solution

*低温反応性の抗体によって、生理食塩液法のみならず反応増強剤-間接抗グロブリン試験でも陽性となることがある。その場合には、反応増強剤無添加-間接抗グロブリン試験を試みる。

注：検査に用いた患者血液とセグメントチューブは一定期間保管して、副作用発生時の調査に備える。

交差適合試験の結果解釈

本来は、事前に不規則抗体スクリーニングを実施する
不規則抗体スクリーニング(陰性)にも関わらず
交差適合試験(陽性)になった場合の原因として

- 1) 低頻度抗原に対する抗体の存在
- 2) 供血者赤血球の直接抗グロブリン試験(陽性)
- 3) 患者と異なるABO血液型の輸血用血液製剤

対応:

- 1). 2)については、新たな赤血球製剤を用いて
交差適合試験を行い、可能であれば、赤十字血液
センターに検査の依頼、確認などを行うと良い



交差適合試験(不規則抗体スクリーニングが陽性の場合)

インターネットを用いた院内在庫の 赤血球抗原情報検索システムについて

平成27年2月

謹啓 時下ますます清栄のこととお慶び申し上げます。

平素より、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センターの血液事業に格別のご高配を賜り、厚く御礼申し上げます。

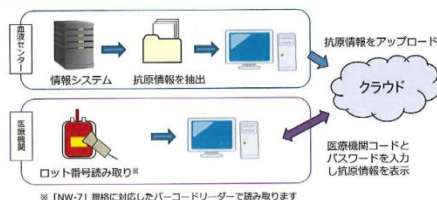
今般、赤血球不規則抗体を保有されている患者さんへの迅速な対応と貴重な血液の有効利用を目的としてインターネットを活用した検索システムの構築を検討しているところです。

つきましては、ご多用のところ恐縮ですが、本システムの試験運用及び検証作業の実施につきましてご協力を賜りますようお願い申し上げます。

今後ともご指導ご鞭撻の程、よろしくお願い申し上げます。

謹白

1. 赤血球抗原情報検索システムの概要



2. 赤血球抗原情報検索システムの画面 (URL : <http://www.kougen.ktks.bbc.jrc.or.jp>)

■ 初期画面



■ 検索結果画面



3. お問い合わせ

東京都赤十字血液センター 学術課 TEL: 03-5534-7548

日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

1. 患者が臨床的意義のある不規則抗体を保有している、又は、過去に臨床的意義のある不規則抗体の保有歴がある場合は以下の抗原陰性血を用いて交差適合試験を行う

① 抗体試薬を用いて抗原陰性を確認した輸血用血液製剤

② 日本赤十字社から供給される抗原陰性血(候補血を含む)

③ インターネットを用いた院内在庫血の赤血球抗原情報探索システムを用いたサービスが開始されている

ABO血液型の輸血対応

1. 患者と**同型の輸血用血液製剤**を用いるのが原則である
2. 但し、患者の血液型が確定できない状況で輸血が必要になった場合は、例外的に**赤血球製剤はO型血漿/血小板製剤はAB型**を使用する
3. 亜型の輸血において、詳細な判定(A_{el} , A_x など)は必ずしも必要ではない。**37℃反応性**(反応増強剤無添加—IAT法で陽性)の**不規則抗 A_1 及び抗B**を保有する患者においてはO型の赤血球を選択する



RhD血液型の判定結果と輸血対応

TT法		判定結果	Rh陰性確認試験		判定結果	輸血時の対応
抗D	Rh-Control		抗D	Rh-Control		
+	—	D陽性	NT	NT	D陽性	D陽性血
—	—	判定保留	+	—	WeakD*	D陰性血
—	—	判定保留	—	—	D陰性	D陰性血

直接凝集法が陰性であれば、D抗原確認試験を実施しなくとも
D陰性血の輸血を選択することができる



輸血関連のルーチンアドバイザー

第一報：国立国際医療研究センター

検査部門 輸血管理室

真鍋 主任

電話：03-3202-7181（代表）

メール：kensa011@hosp.ncgm.go.jp

第二報：国立がん研究センター東病院

病理・臨床検査科

吉田 副技師長

電話：04-7133-1111

メール：shigyosh@east.ncc.go.jp

