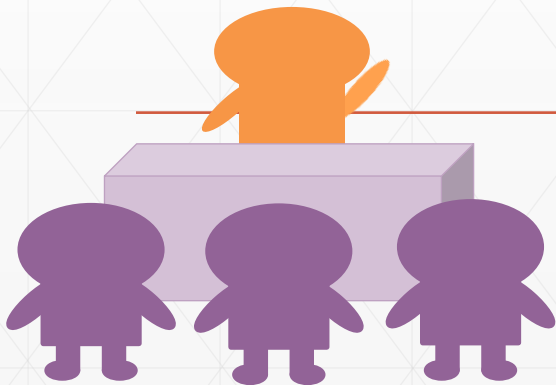


不規則抗体スクリーニングおよび同定 初級者への指導ポイント



三重大学医学部附属病院輸血部
丸山美津子

Menu

- ◇ **テクニカルエラーの防止策**
 - ◇ **検査の意義①～⑦**
 - ◇ **可能性の高い抗体と否定できない抗体**
 - ◇ **実技の検査結果**
-

テクニカルエラーを防止するための指導ポイントとして

ミスが少ない手順と訓練が必要！

試薬等の準備

検体の分注
量・順番・仕方

試験管の
並べ方



試薬の分注
量・順番・仕方

試験管への
記名

判定方法

チェックポイント

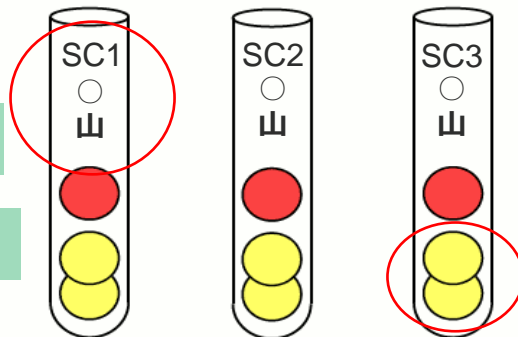
試薬名・患者名を記入

試験管の並べ方は一定に

混和してから遠心

混和してから37℃へ

洗浄から判定までは
間を開けない



検体血漿（血清）から

赤血球試薬は混和して

管底に滴下

分注漏れがないか確認

生食法の結果を記録

反応増強剤無添加*1

37℃ 60分間
(時々よく攪拌する)

37℃になっているか確認

混和してから遠心

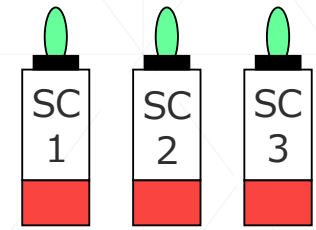
間接抗グロブリン試験の結果を記録

凝集があるか確認

凝集を確認する（凝集しない場合は無効）

検査の意義

① スクリーニング赤血球



➤ 不規則抗体スクリーニングと交差適合試験の大きな違いは？

✓ 赤血球の抗原性が明確である。

➤ 量的効果とは？

✓ ホモ・ヘテロ接合体で抗原量が異なる（ホモ > ヘテロ）

✓ 臨床的意義のある抗体の多くは量的効果がある。

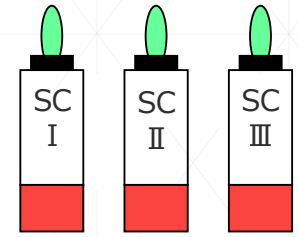
➤ スクリーニング赤血球の条件とは？

✓ D, C, c, E, e, **Di^a**, **Di^b**, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S, s, M, N, P₁, Le^a, Le^b → 抗原陽性

✓ Diego血液型抗原（アジア系人種に特有の抗原）を含む！

✓ C, c, E, e, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, **S, s** → ホモ接合体が望ましい！

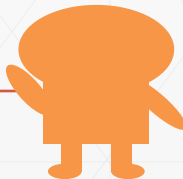
下記のスクリーニング赤血球は？



Cell No	Rh-hr					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Special antigen
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	M	N	S	s	P ₁	
I	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	
II	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	
III	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	Di(a+b+)

- ✓ D, C, c, E, e, Di^a, Di^b, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S, s, M, N, P₁, Le^a, Le^b (は抗原陽性！)
- ✓ Diego血液型抗原（アジア系人種に特有の抗原）を含む！
- ✓ Fy^a, Jk^b, S, (M) が **ヘテロ接合体**

自施設のSC赤血球
は大丈夫？



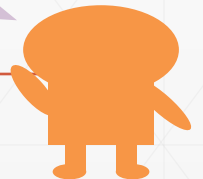
② 生理食塩液法



➤ 生理食塩液法の意義は？

- ✓ “低温反応性抗体”の存在をいち早く確認できる。
- ✓ 一部の低温反応性抗体は反応増強剤使用により、
間接抗グロブリン試験で偽陽性を呈する。

無添加IAT
で再検査



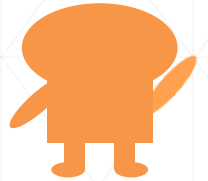
③ 反応増強剤

➤ 無添加・LISS・PEGの違いを理解しているか？

検査法		原理	特徴
間接抗グロブリン試験	無添加	抗原抗体反応の産生は37℃60分で最高点に達する。	反応増強剤の影響を受けない。 反応時間は60分
	低イオン強度溶液(LISS)	LISSにより赤血球上の陽イオンが減少し負の荷電の赤血球と正の荷電の抗体の静電気結合が増強する。	反応時間は10～15分
	ポリエチレングリコール(PEG)	PEGの脱水作用による抗体濃縮効果(立体排他現象)によって抗原抗体反応を促進する。	反応時間は10～15分 自己抗体を検出しやすい γグロブリンを沈殿させる傾向がある。

④ 洗浄操作

生食のpHは
大丈夫？



➤何故、洗浄操作が必要か？

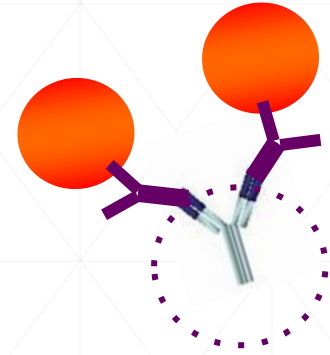
✓ 検査に不必要なIgG蛋白の除去

・ ・ 赤血球の洗浄が不十分でIgG蛋白が残存していると抗グロブリン試薬が中和されるため、間接抗グロブリン試験が偽陰性になる可能性がある。

➤PEGを用いた場合の注意点は？

✓ 洗浄中に γ グロブリンが沈殿し、3回の洗浄では十分なIgG蛋白の除去ができない場合がある。

⑤ 抗ヒトグロブリン試薬



➤ 抗ヒトグロブリン試薬の意義は？

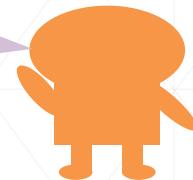
- ✓ 赤血球に結合したヒトグロブリン（抗体）のFc部に結合して抗原抗体反応を目に見える形で凝集させる。
- ✓ 臨床的意義のある抗体を検出する！

➤ 注意点は？

- ✓ 試薬の添付文書に従って使用、再遠心不可、PEG使用の場合は抗IgGが望ましい。
 - ✓ 抗グロブリン試薬添加後はすぐ遠心・判定する（放置により抗体が解離）
-

⑥ IgG感作赤血球

LISSが無添加
で再検査



➤ 何故、IgG感作赤血球が必要か？

- ✓ 間接抗グロブリン試験の精度管理

➤ IgG感作赤血球が陰性となる原因は？

- ✓ 抗グロブリン試薬の分注し忘れや劣化、赤血球の洗浄が不十分、PEGによるグロブリンのゲル化
-

➤ IgG感作赤血球でも確認できないヒューマンエラーは？

- ✓ 血漿（血清）の入れ忘れ、不適正な遠心速度、加温温度や加温時間、被検赤血球の不適切な濃度
-

⑦ 自己対照

➤ 自己対照の意義は？

✓ 不規則抗体スクリーニングでは省略できる。

ただし、抗体同定の際には陰性対照として必ず実施する。

✓ 同種抗体と自己抗体の鑑別の一助となる。

ただし、通常3カ月以内に同種免疫感作（輸血・妊娠・移植歴）がないこと。

可能性の高い抗体 否定できない抗体

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂1版）

1. 赤血球抗体の臨床的意義
 - 1.1. 臨床的に意義のある抗体とは、対応した抗原を有する赤血球を生体内で破壊し、副作用の原因となる赤血球抗体（以下、抗体）である。
 - 1.2. 規則抗体の抗 A、抗 B、抗 A, B は、いかなる場合でも、臨床的に意義のある抗体である。
 - 1.3. 臨床的に意義のある不規則抗体は、ほぼ例外なく、37℃反応相からの間接抗グロブリン試験で陽性となる。
 - 1.4. 緊急時、とくに大量輸血を必要とする患者では、救命のため、不規則抗体が存在していても輸血せざるを得ない場合もある。
2. 患者検体
 - 2.1. 赤血球系検査のための患者検体として、血清（凝固血）あるいは血漿（EDTA 血等）のどちらも使用できる。
 - 2.2. 輸血や妊娠など赤血球による免疫応答（1 次あるいは 2 次応答）の結果、抗体が産生される。しかしながら、輸血あるいは妊娠による免疫から抗体産生までの期間については予測できない。このことを考慮に入れて、不規則抗体スクリーニングや交差適合試験用の検体は採血されなければならない。
 - 2.2.1. 連日にわたって輸血を受けている患者では、少なくとも 3 日ごとに検査用検体を採血する。また、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、輸血予定日に先立つ 3 日以内を目安に患者から検査用検体を採血する。
 - 2.2.2. 輸血前検査に使用できる検体の保管期間は、4℃で保管した場合、採血から 1 週間を限度とする。ただし、3 カ月以内に輸血歴や妊娠歴のない場合に限る。
 - 2.2.3. 輸血後に発症する可能性のある溶血性副作用の原因調査のため、輸血後感染症対策の保管血漿（血

改訂Point①

5.不規則抗体スクリーニングについて

- 可能性の高い抗体、否定できない抗体の推測の定義

抗体同定に進む場合は ‘可能性の高い抗体’の推定を省略できる。

可能性高い抗体とは！？

- 反応パターンが、抗原表のいずれか1つの特異性と完全に一致する抗体（単一抗体）
 - 強陽性と弱陽性の反応パターン（明らかな反応強度差）が、抗原表の特異性とそれぞれ完全に一致する抗体
 - 異なる検査法（Sal・IAT）で得られた反応パターンが、抗原表の特異性とそれぞれ完全に一致する抗体
-

改訂Point②

6. 不規則抗体の同定について

➤可能性の高い抗体の推定

陽性を呈したパネル赤血球の反応パターンや反応強度

➤否定できない抗体の推定

陰性を呈したパネル赤血球による消去法から (量的効果を考慮)

Di(a+b+)、
K+k+赤血球は、
暫定的に消去可能



改訂Point③

6. 不規則抗体の同定について

- 抗体推定の在り方

‘可能性の高い抗体’の推定は生理食塩液法・酵素法・間接抗グロブリン法における反応パターンや反応強度を用いるが、

**消去法による‘否定できない抗体’の推定は、
輸血が前提の場合、間接抗グロブリン試験の結果を用いる。**

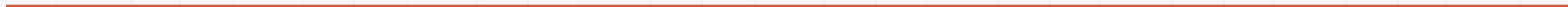
- 抗体の確定のために

→ 2～3例の対応する血液型抗原陽性の赤血球と陽性、2～3例の対応する血液型抗原陰性の赤血球と陰性となることで、抗体の特異性が決定される。

抗体の特異性の決定においては、

抗体試薬を用いて患者の血液型抗原の確認を行う必要がある。

検査結果



不規則抗体スクリーニング

検体名 No. 4

検査者 丸△美○子

Cell No	Rh					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Special Antigen Typing	Test Results			
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁		Sal	PEG IAT	IgG 感作赤血球	
SC1	*	*	0	0	*	0	*	0	*	0	*	0	0	0	*	0	*	*	*		0	0	2+
SC2	*	0	*	*	0	0	*	*	0	+	+	0	*	0	*	*	0	*	*	Di(a+b+)	0	0	2+
SC3	0	0	0	*	*	*	*	*	0	*	0	*	0	*	0	0	*	0		0	0	2+	

否定できない抗体

なし

不規則抗体スクリーニング

検体名 No. 5

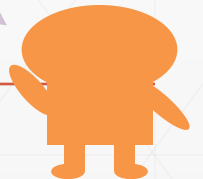
検査者 丸△美○子

Cell No	Rh					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		MNS			P	Special Antigen Typing	Test Results			
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N		P ₁	Sal	PEG IAT	IgG 感作 赤血球
SC1	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+		0	0	2+
SC2	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	Di(a+b+)	0	3+	NT
SC3	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0		0	0	2+

否定できない抗体

抗E、抗Le^b、抗M、抗Di^a

抗Di^a 見落と
してない？



不規則抗体同定

検体名 No. 5

検査者 丸△美○子

Cell No	Rh					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Special Antigen Typing	Test Results	
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁		PEG-IAT	IgG 感作赤血球
P1	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+		2+	NT
P2	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0		3+	NT
P3	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+		0	2+
P4	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+		3+	NT
P5	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	Di(a+b+)	3~4+	NT
P6	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		0	2+
P7	0	0	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+		0	2+
自己																				0	2+

可能性の高い抗体

抗E

否定できない抗体

抗C、抗Le^a、抗S、抗Di^a

特異性の推定

総合判定

可能性の高い抗体

抗E

否定できない抗体

抗Di^a

追加検査

- E-Di(a+)の追加パネル赤血球との反応
 - 3カ月以内にRBC輸血歴がなければ患者赤血球抗原上のE,Di^a抗原の有無
-

指導事項 重点項目

➤ 複数検体を処理する場合の手順について、
ディスカッションの結果を発表！！

- ✓ 検体の取り間違いの防止策
 - ✓ 試験管の並べ方
 - ✓ 試薬や検体の分注手順
 - ✓ 試薬・検体の入れ忘れやコンタミネーションの防止策
-