

## ABO 不適合臍帯血移植後の血液型検査における検査法別の評価

水村 真也 吉井 真司 関 紀子 櫻井 梨恵 芳野 達弘  
高橋みどり 府川 正儀 牧野 茂義

ABO 不適合臍帯血移植後の血液型精査における検査法別の比較を行った。2016年5月～2018年10月に移植を行った72例〔主不適合 (M群) : 34例, 副不適合 (m群) : 25例, 主副不適合 (Mm群) : 13例〕を対象とした。移植後、直近3カ月以内に輸血歴がない時点で初回フォローとし、カラム法 (C法) と試験管法 (T法) で、ドナー型への変化をオモテ試験で、抗体の推移をウラ試験で、患者型抗原の消失確認を吸着熱解離試験で、さらに ABO 遺伝子タイピングを実施し、検査法間で比較検討した。オモテ試験では T 法より C 法がドナー型への変化を認めたが部分凝集の検出感度が T 法より劣る点と自動機のノズルが採血管最下層で血球をサンプリングするため、比重の軽い新しいドナー由来赤血球を的確にサンプリングしない問題があり結果の解釈には注意が必要であった。吸着熱解離試験では 50.0% (19/38 例) で患者型抗原の残存を認め、ドナー型への変更時期を逸する可能性が示唆された。遺伝子タイピングは全例ドナー型へ変化した。他法と結果が乖離する問題があった。以上より、移植後の血液型精査は T 法単独で実施可能と考えられた。

キーワード：ABO 遺伝子タイピング, ABO 不適合臍帯血移植, 血液型検査

### はじめに

ABO 不適合造血幹細胞移植後の A, B 血液型抗原の推移は、移植種類, ABO ミスマッチの組み合わせ, 輸血量, 疾患等, 患者によって様々であり, 移植後の血液型抗原の推移に関する研究も数多く報告<sup>1)~3)</sup>されている。

しかし、臍帯血移植においては、移植後早期合併症等の問題点への解析が進む中で、ABO 不適合臍帯血移植後の血液型抗原の推移について追跡した報告は少ない。また、臍帯血移植に限らず、ドナー型への血液型変更に関して行う血液型検査法の明確な基準がなく、各施設によって様々である。

当院では移植後の血液型精査に自動輸血検査装置を用いたゲルカラム凝集法 (以下: カラム法) による血液型検査, 試験管法による血液型検査, 直接抗グロブリン試験, さらに微量に存在する患者血液型抗原は、再発に関与する可能性があると考え、吸着熱解離試験を実施している。

近年 Luminex<sup>®</sup>テクノロジーを用いて簡便・迅速に ABO 血液型の遺伝子タイピングを実施できる試薬 (ジェノサーチ<sup>™</sup> ABO) が開発され、血清学的検査で判定が困難な亜型等を鑑別できる検査法として注目されている<sup>4)~6)</sup>。

本研究では、カラム法・試験管法・吸着熱解離試験に加え、新たな検査法として注目されるジェノサーチ<sup>™</sup> ABO を用いた ABO 遺伝子タイピングを実施し、ABO 不適合臍帯血移植後の血液型検査初回フォロー症例における検査法別の反応態度及び判定結果について比較検討を行った。

### 対象及び方法

#### 1) 対象

2016年5月から2018年4月に ABO 不適合臍帯血移植を行い本研究に同意が得られ、移植後の血液型フォローが可能だった72例〔主不適合 (以下 M 群) : 34例, 副不適合 (以下 m 群) : 25例, 主副不適合 (以下 Mm 群) : 13例〕を対象とした。

#### 2) 方法

①検査タイミングと検査方法及び血液型変更基準  
移植後、直近3カ月以内に輸血歴がない時点を初回フォローとした。

全ての群共通でオモテ試験 (カラム法・試験管法), ウラ試験 (カラム法・試験管法), 試験管法による直接抗グロブリン試験 (Direct antiglobulin test, 以下: DAT), ABO 遺伝子タイピングを実施した。

m 群及び Mm 群の患者型抗原の消失確認をオモテ試

Table 1 Conditions for changes to the donor blood type in the results of the blood grouping tests at Toranomon Hospital

	Conversion criteria
Major mismatch	No history of blood transfusion within the previous 3 months Test tube method is used Negative direct antiglobulin test Loss of recipient antibodies towards donor blood type antigens Test results show detection of donor blood type antigens without any partial agglutination
Minor mismatch	No history of blood transfusion within the previous 3 months Test tube method are used Negative direct antiglobulin test Adsorption-elution test shows loss of recipient antigens
Major/minor mismatch	The criteria for both major and minor mismatch are met

験より高感度法である吸着熱解離試験で実施した。

当院では ABO 不適合同種造血幹細胞移植の輸血療法<sup>7)</sup>を基準に、ABO 不適合移植後のドナー血液型への変更基準を定めている (Table 1)。本研究におけるドナー血液型への変更可否についても当院の基準を採用した。なお、当院ではオモテ試験での部分凝集は異常反応という位置付けから、主不適合においてオモテ試験で部分凝集が認められる場合、DAT の結果に関わらず変更不可としている。

### 3) 検査方法詳細

#### ①血液型検査

カラム法は、全自動輸血検査装置 IH-1000 (バイオ・ラッド社) を使用した。試験管法は、直後判定及び 22°C 30 分インキュベーション後の判定とした。試験管法オモテ試験の抗血清はバイオ・ラッド社のダイアクロン抗 A 及び抗 B を、ウラ試験の A 血球 B 血球はオーソ社のアフターマジェン<sup>®</sup>を使用した。

#### ②吸着熱解離試験

バイオ・ラッド社の抗血清を使用し、既報の方法<sup>8)</sup>で実施したが、メーカーの操作説明書に従い、解離液の直後判定が弱い場合、4°C 15 分インキュベーション後に再判定した。熱解離温度はメーカー指定の 56°C に設定した。

#### ③DNA 抽出

QIAGEN の DNA 抽出キット (QIAamp<sup>®</sup> DNA Blood Mini Kit) を使用し、メーカーの能書に従い DNA を抽出した。

DNA 純度及び濃度は分光光度計 GeneQuant pro (GEヘルスケアバイオサイエンス株式会社) を使用し、吸光度比 260/280 が 15 以上 (純度)、DNA 濃度が 10~20 ng/μl になるように調製した。

#### ④ABO 遺伝子タイピング

ABO 遺伝子タイピング試薬 ジェノサーチ<sup>™</sup> ABO を使用し、添付文書に従い検査した。測定は Luminex<sup>®</sup> 100/200<sup>™</sup> システムを使用し、解析は Luminex 解析ソフ

トウェア UniMAG<sup>™</sup> を用いて判定した。

本製品は ABO 血液型をアリル表記で判定できるが、アリルの候補が複数存在する場合、アリルを確定することができないため、ドナー血液型への変化は血清型表記で確認した。

### 解析及び統計

基本統計として各群の年齢、性別、各種細胞群の生着日数、移植前輸血単位数、移植後輸血単位数、移植後輸血依存期間を解析した。さらにドナー血液型抗原の検出状況、及び患者血液型抗原の消失状況を各群・検査法別に比較検討した。統計解析にはクラスカルウォリス検定、Fisher の正確検定を用いて行い、有意水準は 5% に設定した。統計ソフトはエクセル統計<sup>®</sup>を使用した。

本研究は虎の門病院研究倫理審査委員会より承認された研究である。

### 結 果

#### 1) 患者背景及び基本統計 (Table 2)

移植後初回フォロー日数中央値 (範囲) は M 群 147 日 (115~229)、m 群 151 日 (123~237)、Mm 群 157 日 (121~210) であり差を認めなかった。また、赤血球液の輸血依存期間中央値 (範囲) は M 群 44 日 (11~135)、m 群 37 日 (8~134)、Mm 群 41 日 (29~109) であった。

初回フォロー時のドナー型への変更可能率は、M 群で 23.5%、m 群で 20.0%、Mm 群で 7.7% であり、特に Mm 群 (7.7%) で低かった。また、初回フォロー時に明らかな原病の再発を認めた例はなかった。

#### 2) ドナー血液型への変化率 (Table 3)

ミスマッチ別のドナー血液型への変化状況は、①M 群及び Mm 群におけるドナー血液型抗原検出 (オモテ試験でドナー血液型抗原に対する抗血清との反応が 4+) では、カラム法 M 群で 91.7%、Mm 群で 92.3% が部分

Table 2 Standard data

	M group	m group	Mm group	p value
Number of patients	34	25	13	
Sex				
Male	20	13	9	0.59
Female	14	12	4	
Age (years)				
Median (range)	57 (24—73)	46 (23—72)	55 (16—70)	0.33
Disease				
Acute leukemia	30	19	9	
Malignant lymphoma	1	3	1	
Myelodysplastic syndrome	2	2	2	
Chronic myeloid leukemia	1	1	1	
Number of days of grafting				
WBC	19 (12—27)	21 (14—27)	22 (18—28)	0.06
RET	27 (15—55)	27 (16—41)	27 (19—40)	0.91
PLT	31 (20—64)	35 (18—88)	38 (26—69)	0.13
Number of blood units transfused prior to transplant *				
Red blood cells	10 (0—118)	12 (0—46)	14 (0—106)	0.84
Platelet concentrate	80 (0—340)	60 (0—415)	60 (0—205)	0.76
Number of blood units transfused post-transplant *				
Red blood cells	17 (2—82)	12 (4—56)	18 (12—56)	0.09
Platelet concentrate	185 (90—700)	195 (110—745)	240 (0—490)	0.24
Duration of dependency on blood transfusion post-transplant *				
Red blood cells	44 (11—135)	37 (8—134)	41 (29—109)	0.19
Platelet concentrate	33 (20—151)	39 (21—365)	38 (30—115)	0.19
Number of days post-transplant to the first follow up *	147 (115—229)	151 (123—237)	157 (121—210)	0.78
Timing of the first follow up				
Possibility of blood type conversion	23.5% (8 cases)	20.0% (5 cases)	7.7% (1 cases)	
Recurrence during the first follow up				
Yes	0	0	0	
No	34	25	13	

\* Median (range)

Table 3 Rates of conversion to the donor blood type

	M group (n = 34)	m group (n = 25)	Mm group (n = 13)
Forward grouping test <sup>1)</sup>			
Column method	91.7% (31 cases)	-	92.3% (12 cases)
Test tube method	32.4% (11 cases)	-	46.2% (6 cases)
Forward grouping test <sup>2)</sup>			
Column method	-	96.0% (24 cases)	100% (13 cases)
Test tube method	-	60.0% (15 cases)	84.6% (11 cases)
Reverse grouping test <sup>3)</sup>			
Column method	100% (34 cases)	-	100% (13 cases)
Test tube method	85.3% (29 cases)	-	84.6% (11 cases)
Adsorption-elution test <sup>4)</sup>	-	28.0% (7 cases)	23.1% (3 cases)
ABO genotyping	100% (34 cases)	100% (25 cases)	100% (13 cases)

1) Confirmation of the detection of donor blood type antigens

2) Confirmation of the loss of recipient blood type antigens

3) Confirmation of the loss of recipient-derived antibodies against donor blood antigens

4) High-sensitivity method for confirming the loss of recipient blood type antigens

凝集なく「4+」で検出されているのに対し、試験管法では「4+」で検出された例はM群で32.4%、Mm群で46.2%であった。

②m群及びMm群の患者型血液型抗原消失確認(患者型血液型抗原に対する抗血清との反応が陰性)につ

いては、カラム法ではオモテ試験陰性を確認できた例がm群96.0%、Mm群100%なのに対し、試験管法ではm群60.0%、Mm群84.6%であった。

ウラ試験については、カラム法でドナー血液型抗原に対する患者由来抗体の消失を確認できたのがM群、

Table 4 ABO genotyping results

No.	Recipient blood type	Donor blood type	ABO genotyping post-transplant —serum type—	No.	Recipient blood type	Donor blood type	ABO genotyping post-transplant —serum type—
1	B	A	A	41	B	O	O
2	B	O	O	42	A	AB	AB
3	AB	O	O	43	A	AB	AB
4	B	A	A	44	O	A	A
5	B	O	O	45	AB	A	A
6	B	A	A	46	AB	A	A
7	O	A	A	47	O	A	A
8	A	O	O	48	O	B	B
9	A	O	O	49	A	B	B
10	A	B	B	50	B	AB	AB
11	B	O	O	51	O	A	A
12	O	A	A	52	O	A	A
13	B	A	A	53	A	AB	AB
14	O	A	A	54	A	O	O
15	A	O	O	55	A	O	O
16	B	AB	AB	56	O	A	A
17	B	O	O	57	O	A	A
18	A	O	O	58	O	A	A
19	O	A	A	59	O	B	B
20	AB	O	O	60	O	A	A
21	O	A	A	61	O	B	B
22	B	O	O	62	O	A	A
23	B	A	A	63	A	AB	AB
24	A	O	O	64	O	A	A
25	A	O	O	65	O	AB	AB
26	O	A	A	66	B	O	O
27	A	AB	AB	67	B	A	A
28	A	O	O	68	A	O	O
29	B	A	A	69	AB	A	A
30	AB	O	O	70	O	A	A
31	O	A	A	71	O	A	A
32	O	A	A	72	A	B	B
33	A	B	B				
34	B	A	A				
35	A	O	O				
36	O	B	B				
37	B	A	A				
38	O	B	B				
39	O	A	A				
40	AB	B	B				

Mm 群ともに 100% であったのに対し、試験管法では M 群 85.3%, Mm 群 84.6% であった。なお、ドナー由来の抗体を産生した例はなかった。

オモチ試験より高感度な患者型血液型抗原消失確認法である吸着熱解離試験では、m 群 28.0%, Mm 群 23.1% しか患者型血液型抗原の消失を確認できなかった。

ジェノサーチ™ ABO を用いた ABO 遺伝子タイピングは全例でドナー血液型へ変化していた (Table 4)。

### 3) ドナー血液型への変化を認めなかった原因 (Table 5)

ドナー血液型抗原を検出する M 群・Mm 群においては、ドナー血液型への変更不可理由の 30 件が部分凝集反応であった。患者型抗原の消失を確認する m 群・Mm

群の試験管法において、通常の抗血清との凝集とは異なる弱く脆い凝集を認めた。さらにこの脆い凝集は抗 A 血清との反応でのみ認められ、抗 B 血清での脆い凝集はなかった。つまり患者が A 型 (または AB 型) の副不適合または主副不適合の場合に発生していた。

M 群ではウラ試験で抗ドナー抗体陽性が 5 例あり、うち 2 例は解離試験において抗 A1 抗体が検出された。この 2 例はいずれも患者 O 型・ドナー A 型の組み合わせであった。

また、m 群では 11 例 (2 例は患者 AB 型で A のみ吸着熱解離試験陽性)、Mm 群では 8 例で吸着熱解離試験陽性であった。



Table 5 Causes for non-conversion to donor blood type

	M group (n = 34)	m group (n = 25)	Mm group (n = 13)
Forward grouping by column method			
Partial agglutination	3	-	1
Weak reaction	-	1	-
Forward grouping by test-tube method			
Partial agglutination	23	1*	7
Weak reaction	-	8**	2**
Reverse grouping by the test-tube method shows anti-donor antibody positivity			
DAT positive/elution test positive	2***	-	-
DAT positive/elution test negative	1	-	-
DAT negative/elution test negative	2	-	2
Positive adsorption-elution test			
	-	11	8

\*Case if B-type donor for an AB-type recipient. Partial agglutination present due to reaction with anti-B serum

\*\*In contrast to regular agglutination, the reaction with anti-serum is a weak agglutination.

Moreover, a weak agglutination reaction occurs with anti-A serum only when the recipient blood type is A or AB.

\*\*\*Anti-A1 antibodies detected

## 考 察

移植後のドナー血液型への変更基準は各施設によって様々であるが、オモテ試験で部分凝集がある場合に変更不可とする当院の基準と照らし合わせるとM群・Mm群で63.8% (30/47件) が初回フォロー時では変更不可という結果となった。

検査法別のドナー血液型抗原検出状況では、試験管法オモテ試験で部分凝集がドナー型への変更可否に影響を与えていた。

カラム法オモテ試験のドナー血液型抗原検出では、一見するとカラム法は試験管法に比べ、ドナー血液型への変化を認めやすいと見誤る可能性があり、カラム法と試験管法の結果の解釈には以下の点で注意が必要である。

自動機を用いたカラム法ではサンプリングノズルが採血管最下層まで降りてサンプリングするため、比重の軽い新しいドナー由来の赤血球を的確にサンプリングしない<sup>9)</sup>、本研究の全症例が移植後100日以上経過し、かつ直近3か月以内に輸血歴がないことから、患者由来赤血球の部分凝集は少量であったが、カラム法では移植後の検体で比重の重い患者由来赤血球を試験管法に比べサンプリングしやすい。また、カラム法は測定原理により患者赤血球浮遊液がリアクションチャンバーからカラム層に移行する際、抗血清と一気に抗原抗体反応を起こすため、大部分の凝集血球の中に、極わずかな非凝集血球が存在すると、一部の非凝集血球が凝集血球に取り込まれてしまい、実際の混合比に比べ部分凝集を示さない場合がある<sup>10)</sup>。自動機カラム法で部分凝集なく判定され、試験管法で部分凝集ありと判定された症例の自動機判定画像を目視で確認すると部分凝集が確認できたことから、検体サンプリング位置が異なる点とカラム法の測定原理に加え、自動機判定用カ

メラの感度が、カラム法と試験管法の部分凝集検出における乖離原因と考えられた。

カラム法で部分凝集が認められなかった26症例(M群20例、Mm群6例)の全例が試験管法で部分凝集を認めたことから、自動機カラム法単独で判断する場合は、部分凝集の検出漏れの可能性があるため、試験管法を併用することが望ましい。

m群やMm群の患者型抗原消失確認を試験管法オモテ試験で行った際に、通常の抗血清との凝集とは異なる弱く脆い凝集をm群で8例、Mm群で2例認めたが、現時点では患者由来血液型抗原の残存なのか、非特異的凝集なのか判断できなかった。今後、継続的にフォローし、原因を究明していきたい。

ウラ試験による患者由来抗体の消失では、日高らの報告<sup>11)</sup>にあるように、物理的に強い遠心力で強制的に赤血球を近づけ凝集塊をつくり、そこから凝集塊をほぐしていく試験管法と、抗血清が入ったカラム層を赤血球が通過するだけのカラム法では、カラム法が試験管法より反応が弱くなる。本研究においてもカラム法ウラ試験陰性・試験管法ウラ試験陽性例、すなわち患者由来の抗A抗体または抗B抗体の残存がM群試験管法ウラ試験で5例、Mm群試験管法ウラ試験で2例存在し、カラム法と試験管法の遠心目的の違いによる反応強度(感度)の差が大きいと考えられた。

初回フォロー時点で全例再発がないにも関わらず、吸着熱解離試験ではm群11例、Mm群8例で患者型抗原の残存を認めた。副不適合において、血漿中の患者組織由来の血液型物質が赤血球膜に吸着することが報告<sup>12)~14)</sup>されているため、微量の抗原を検出する吸着熱解離試験で陽性となる可能性があり、本試験を移植後の血液型精査に組み込むとドナー型への変更時期を逸する可能性が示唆された。よって移植後の精査法に本

試験を組み込む必要性は低いと考えるが、臨床的意義を判断するためには陽性症例のさらなる追跡調査を行う必要があると考えられた。

ジェノサーチ™ ABO を用いた ABO 遺伝子タイピングは全例でドナー型へ変化しており、移植後早期にドナー型への変化を確認することができ、ABO 亜型の確認だけでなく、造血幹細胞移植後の血液型を確認できる検査法であることが確認された。

また、本試薬はキット化されており、能書に従えば比較的簡便に検査を行うことができる。しかし、DNA の抽出から測定（解析）終了まで4時間かかり、さらに血液型検査の保険点数のみで本検査の検査費用は賄いきれず、コストがかかることが問題である。また、ABO 遺伝子タイピングは患者血液中の白血球から抽出した DNA を検査するため、白血球の生着を見ていることになり、造血幹細胞移植後の赤血球モニタリングには適さないと考えられた。さらに、医療機関で行う血液型検査の一番の目的は輸血用血液製剤の使用血液型を確定させることにあるため、遺伝子的にドナー型へ置き換わっていても、血清学的な検査において抗原と抗体の検出・消失をしっかりと確認し、輸血副反応が起きない血液型を確定させなければならない。実際、本研究において原病の再発なくフォロー中の患者でも試験管法（カラム法含む）と遺伝子タイピング結果が乖離する例が存在し、検査法別の結果解釈が重要となることを再認識した。よって、ABO 遺伝子タイピングは移植後のフォローに単独で用いることは不適と考えられ、補助的な測定法として必ず血清学的検査結果を考慮した上で、遺伝子検査結果を承認することが望ましいと考えられた。

## 結 語

今回の研究結果から、ABO 不適合臍帯血移植後の血液型検査及びドナー血液型への変更時期の判断には試験管法による赤血球型検査（オモテ試験、ウラ試験）と DAT で実施可能と考えられ、カラム法（自動機）、吸着熱解離試験、遺伝子タイピングは単独で実施せず、必ず試験管法を併用し、検査を実施する際にはその結果の解釈に注意が必要である。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

## 文 献

- 1) David B, Bernard D, Navenot JM, et al: Flow cytometric monitoring of red blood cell chimerism after bone marrow transplantation. *Transfus Med*, 9: 209—217, 1999.
- 2) Kishino K, Muroi K, Kawano C, et al: Evaluation of engraftment by ABO genotypic analysis of erythroid burst-forming units after bone marrow transplantation. *Leuk Res*, 26: 13—17, 2002.
- 3) 岸野光司, 中木陽子, 森 正樹, 他: ABO 不適合造血幹細胞移植における ABO 遺伝子型を用いた移植片の生着確認の有用性. *医学検査*, 56: 1551—1555, 2007.
- 4) Yamamoto F, Clausen H, White T, et al: Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature*, 345: 229—233, 1990.
- 5) 西向弘明, 沖浦達幸, 辻村隆介, 他: 蛍光ビーズマイクロレイシシステム (Luminex 法) によるヒト ABO 遺伝子タイピング. *DNA 多型*, 18: 204—208, 2010.
- 6) 福森泰雄: ABO 血液型における遺伝子型検査. *臨床検査*, 58: 542—548, 2014.
- 7) American association of blood banks: Technical manual 13th edition (日本語版), 文祥堂, 東京, 2002, 588.
- 8) 日本臨床衛生検査技師会: JAMT 技術教本シリーズ 輸血・移植検査技術教本, 一般社団法人日本臨床衛生検査技師会, 2016, 70—72.
- 9) 尾崎牧子, 二宮早苗, 土手内靖, 他: ABO 血液型不適合造血幹細胞移植後のドナー型赤血球検出の至適条件. *日本輸血細胞治療学会誌*, 56: 687—691, 2010.
- 10) Thomas S, Viviana V, John P, et al: The value of automated gel column agglutination technology in the identification of true inherited D blood types in massively transfused patients. *Transfusion*, 49: 1672—1677, 2009.
- 11) 日高陽子, 川田典子, 奥田 誠, 他: カラム凝集法による ABO 血液型うら試験弱反応検体の解析. *日本輸血学会雑誌*, 51: 565—570, 2005.
- 12) 菅野直子, 中木陽子, 皆見啓子, 他: minor ABO 不適合骨髄移植後の正常同種凝集素および糖転移酵素の変化. *日本輸血学会雑誌*, 43: 877—882, 1997.
- 13) 岸野光司, 室井一男, 中木陽子, 他: ABO 不適合骨髄移植後の赤血球における ABH 抗原型物質の解析. *日本輸血学会雑誌*, 48: 335—341, 2002.
- 14) Hult AK, Dykes JH, Storry JR, et al: A and B antigen levels acquired by group O donor -derived erythrocytes following ABO-non-identical transfusion or minor ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Med*, 27: 181—191, 2017.

## EVALUATION OF TEST METHODS FOR BLOOD TYPING AFTER ABO-INCOMPATIBLE CORD BLOOD TRANSPLANTATION

*Shinya Mizumura, Shinji Yoshii, Noriko Seki, Rie Sakurai, Tatsuhiro Yoshino, Midori Takahashi, Masanori Fukawa and Shigeyoshi Makino*

Department of Transfusion Medicine, Toranomon Hospital

### **Abstract:**

This study compared test methods for detailed examination of blood type after ABO-incompatible cord blood transplantation. Of the 72 subjects who underwent transplantation between May 2016 and October 2018, 34 had a major mismatch, 25 had a minor mismatch, and 13 had a major/minor mismatch. After transplantation, the first follow up was performed in those with no history of transfusion in the previous 3 months. Conversion to the donor blood type was confirmed by forward cell grouping, changes in antibodies by reverse grouping, and loss of recipient antigens by adsorption elution tests using column tests (C-tests) and test-tube tests (T-tests). Furthermore, ABO genotyping and an intergroup comparison were performed. T-tests are superior for detecting the sensitivity of partial agglutination, while a problem with C-tests is that the nozzle of the automatic machine does not accurately sample new donor blood cells with low specific gravity. The adsorption-elution test revealed remnant recipient antigens in 19 cases (50.0%), indicating missed timing for conversion to the donor blood type. While genotyping showed conversion to the donor blood type in all cases, the results obtained using other methods differed, which was concerning. We conclude that blood type examination after transplantation can be performed using T-tests alone.

### **Keywords:**

ABO genotyping, ABO-incompatible cord blood transplantation, Blood grouping test