

輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.1 から Ver1.3.2 への変更一覧

変更箇所	(旧) Ver.1.3.1	(新) Ver.1.3.2
P1 1.3～5 赤血球浮遊液の作製法	<p>注3：通常、試験管法においては1滴量≒50μLとして検査を実施するが、メーカーによってスポイト1滴の容量にはバラツキがある。<u>そのため、操作角度や滴数は使用するスポイトに応じて約50μLとなるよう、あらかじめ確認しておく。</u></p> <p>※一般的に、樹脂製スポイトは傾斜して操作すると、垂直で操作したときよりも1滴の容量は減少するので注意する。</p>	<p>注3：通常、試験管法においては1滴量≒50μLとして検査を実施するが、メーカーによってスポイト1滴の容量にはバラツキがある。<u>スポイトは垂直で操作するのが望ましい。また、スポイトの操作角度や滴数は使用するスポイトに応じて約50μLとなるよう、あらかじめ確認しておく。</u></p> <p>(削除)</p>
P2 3. 凝集の見方	<p>試験管は目の高さ以下で操作し、白色（光）を背景にして判定する。</p>	<p>試験管は目の高さより低い位置で操作し、白色（光）を背景にして判定する。</p>
P4 【表2. ABO 血液型判定表】	<p>注1：採血時の取り違えや誤判定を防止するため、原則として異なる時点で採血された2検体でそれぞれ検査を行い、両方の結果が一致することを確認し、血液型を確定する。</p>	<p>注1：採血時の患者または採血管の誤認や誤判定を防止するため、原則として異なる時点で採血された2検体でそれぞれ検査を行い、両方の結果が一致することを確認し、血液型を確定する。</p>
P5 2. 不規則抗体スクリーニング (1) 操作手順 【間接抗グロブリン試験】	<p>注5：<u>母親の不規則抗体検査が陰性である場合は、胎児や新生児の不規則抗体検査は省略できり。ただし、ABO不適合妊娠の可能性がないにもかかわらず、胎児や新生児の溶血性貧血が疑われる場合には、低頻度抗原に対する抗体による反応を疑い、精査が必要な場合がある。</u></p>	<p>注5：<u>生後4か月未満の乳児においては、母親または児の初回不規則抗体スクリーニングが陰性となり同種抗体の存在が否定できれば、生後4か月未満の期間、2回目以降の検査は省略してもよい。また、ABO不適合妊娠の可能性がないにもかかわらず、胎児や新生児の溶血性貧血が疑われる場合には、低頻度抗原に対する抗体による反応を疑い、精査が必要な場合がある。</u></p>
P5 3. 交差適合試験 (1) 患者検体の採血時期	<p>1) <u>検体取り違い</u>によるABO不適合輸血を防止するため、交差適合試験には血液型検査とは別の時点で採血された検体を用いる。原則として、輸血予定日に先立つ3日(72時間)以内に新たに採取された検体で実施する。</p>	<p>1) <u>検体誤認</u>によるABO不適合輸血を防止するため、交差適合試験には血液型検査とは別の時点で採血された検体を用いる。原則として、輸血予定日に先立つ3日(72時間)以内に新たに採取された検体で実施する。</p>
P5～P10 2. 不規則抗体スクリーニング 3. 交差適合試験	<p>反応増強剤_間接抗グロブリン試験 反応増強剤無添加_間接抗グロブリン試験</p>	<p>反応増強剤<u>添加</u>の間接抗グロブリン試験 反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験</p>

<p>P7~P8</p> <p>3. 交差適合試験</p>	<p>コンピュータークロスマッチ</p>	<p>コンピュータークロスマッチ</p>
<p>P7</p> <p>3. 交差適合試験</p>	<p>(2) 輸血用血液の選択</p> <p>3) 患者が 37℃反応性の<u>臨床的に意義のある同種抗体を保有している場合には、対応抗原陰性血を用いる。また、このような抗体を過去に保有していて、現在陰性化している患者に対しても2次免疫応答による遅発性溶血性輸血副作用を防止するため、対応抗原陰性血を用いる（Ⅲ-5参照）。</u></p> <p>(3) 結果の解釈 (新設)</p>	<p>3) 患者が 37℃反応性の<u>臨床的意義のある同種抗体を保有している場合には、対応抗原陰性血を用いる。また、このような抗体を過去に保有していて、現在陰性化している患者に対しても2次免疫応答による遅発性溶血性輸血反応を防止するため、対応抗原陰性血を用いる（Ⅲ-5参照）。</u></p> <p>(3) 結果の解釈</p> <p>➤ <u>同種抗体を保有し 3 か月以内に輸血歴のある患者は、主試験と共に自己対照も実施するのが望ましい。</u></p> <p><u>1) 主試験(-)、自己対照(+)<u>の結果から遅発性溶血性輸血反応(DHTR)を早期に発見できることがある。</u></u></p>
<p>P8</p> <p>3. 交差適合試験</p>	<p>(5) コンピュータークロスマッチ</p> <p><u>1) 結果の不一致や輸血用血液製剤の選択の誤りを警告できること。</u></p> <p><u>2) 患者の血液型が 2 回以上異なる時点で採血された検体により確認されていること。</u></p> <p><u>3) 赤血球液の血液型が再確認されていること。</u></p> <p><u>4) 新生児および 4 カ月以内の乳児においてコンピュータークロスマッチは禁忌である。</u></p>	<p>(5) コンピュータークロスマッチ</p> <p><u>1) 検査結果の不一致や血液製剤の選択が誤っている際には警告される。</u></p> <p><u>2) 患者のABOおよびRhD血液型が2回以上異なる時点で採血された検体により確認されている。</u></p> <p><u>3) 不規則抗体スクリーニングにおいては、輸血に先立つ3日以内に採血された検体で検査が施行されている。</u></p> <p><u>4) 使用する赤血球製剤のABO血液型が、オモテ検査により施設で確認されている。</u></p> <p><u>5) 生後4か月未満の児においては、児または母親の血漿（血清）中に臨床的意義のある不規則抗体がない。また、児血漿（血清）について、間接抗グロブリン試験による ABO 血液型ウラ検査等を行うことで、母親由来の IgG 型抗 A/抗 B を保有していないことが確認されている。</u></p>

<p>P10</p> <p>図8. 交差適合試験の手順</p>	<p>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、副反 用発生時の調査に備える。</p>	<p>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、副反 応発生時の調査に備える。</p>
<p>P12</p> <p>5. 不規則抗体陽性患者への輸血</p>	<p>不規則抗体スクリーニングおよび抗体同定の結果、患者血漿(血清)中に臨床 的意義のある同種抗体 Rh (抗 D、抗 E、抗 c、抗 C、抗 e)、Kidd (抗 Jk^a、 抗 Jk^b)、Duffy (抗 Fy^a、抗 Fy^b)、Diego (抗 Di^a、抗 Di^b)、Kell (抗 K など)、 Ss (抗 S、抗 s) が間接抗グロブリン試験(IAT)で検出された場合は、対 応抗原陰性の赤血球を選択し輸血する。過去にこれらの抗体を保有したこと がある患者においても、可能な限り対応抗原陰性血を選択する。また、37℃ 反応性の抗 M、抗 Le^a が<u>反応増強剤無-IAT</u>で陽性の場合、同様に対応抗 原陰性血を選択する。さらに、稀な血液型表現型の患者が保有する抗 Jr^a な どの同種抗体については、最寄りの日本赤十字血液センターへ相談して可能 な限り対応抗原陰性血の入手に努める。</p> <p>一方、抗 P1、抗 N、抗 Le^b (ほとんど抗 Le^{bH})、抗 Xg^a や高頻度抗原(JMH、 Knops、Cost、Chido/Rodgers など) に対する抗体は臨床的意義がないた め、これらの抗体が IAT で検出された場合であっても抗原陰性血を選択しな いで輸血する。</p>	<p>不規則抗体スクリーニングおよび抗体同定の結果、患者血漿(血清)中に臨床 的意義のある同種抗体 Rh (抗 D、抗 E、抗 c、抗 C、抗 e)、Kidd (抗 Jk^a、 抗 Jk^b)、Duffy (抗 Fy^a、抗 Fy^b)、Diego (抗 Di^a、抗 Di^b)、Kell (抗 K など)、 Ss (抗 S、抗 s) が間接抗グロブリン試験(IAT)で検出された場合は、対 応抗原陰性の赤血球を選択し輸血する。過去にこれらの抗体を保有したこと がある患者においても、可能な限り対応抗原陰性血を選択する。また、37℃ 反応性の抗 M、抗 Le^a が<u>反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験</u>で陽性の 場合は、同様に対応抗原陰性血を選択する。さらに、稀な血液型表現型の患 者が保有する抗 Jr^a などの同種抗体については、最寄りの日本赤十字血液セ ンターへ相談して可能な限り対応抗原陰性血の入手に努める。</p> <p>一方、抗 P1、抗 N、抗 Le^b (ほとんど抗 Le^{bH})、抗 Xg^a や高頻度抗原(JMH、 Knops、Cost、Chido/Rodgers、<u>KANNNO</u> など) に対する抗体は臨床的 意義がないため、これらの抗体が IAT で検出された場合であっても抗原陰性 血を選択しないで輸血する。</p>
<p>P13</p> <p>IV. 異常反応に対する考え方</p>	<p>IV. <u>異常反応</u>に対する考え方</p>	<p>IV. <u>予期せぬ反応</u>に対する考え方</p>
<p>P13</p> <p>【表6. オモテ・ウラ不一致の問 題解決法】</p> <p>4. 重症感染症</p>	<p>検査への影響 (原因)</p> <p>① <u>汎血球凝集反応〔細菌の酵素により露出した赤血球膜の潜在抗原(Tなど) と抗Aや抗B試薬との交差反応〕</u></p> <p>② <u>Acquired B〔細菌の酵素により脱アセチル化された修飾抗原と抗Bとの 交差反応〕</u></p>	<p>検査への影響 (原因)</p> <p>① <u>汎血球凝集反応〔細菌の酵素により露出した赤血球膜の潜在抗原(Tなど) と一部の抗Aや抗B試薬が交差反応を示す〕</u></p> <p>② <u>Acquired B〔細菌の酵素により脱アセチル化された修飾抗原と一部の抗B 試薬が交差反応を示す〕</u></p>

<p>P14</p> <p>2. オモテ・ウラ不一致への対応 (2) ABO亜型の進め方</p>	<p>(2) ABO亜型の血清学的鑑別法</p> <p>ABO 血液型検査においてモノクローナル抗A や抗B 試薬で反応の減弱(≤3+)、または陰性でオモテ・ウラ一致が認められた場合には、その一因として疾患による抗原減弱やABO 亜型を疑う。亜型の詳細な分類は輸血前検査として必須ではないが、<u>オモテ・ウラ不一致の原因が亜型によるものであることを確認する必要がある。典型的なABO 亜型については、下記のフローチャートにしたがって鑑別することができる。</u></p> <p>吸着解離試験はO 型との鑑別に有用であり、原則としてオモテ・ウラ不一致を認めた際に実施する。本検査で解離液から抗体が証明された場合は、抗体に対する抗原が赤血球上に多少とも存在している可能性が高い。また、主な亜型の鑑別には抗A₁ レクチンや唾液中和試験または糖転移酵素活性測定が役立つ。</p> <p>注：輸血についてはⅢ-4 を参照する。</p> <p>：試験管法での基準であり、他の検査方法では添付文書に従い再検基準を設ける。</p> <p>【図 10. <u>A 亜型検査のフローチャート</u>】</p> <p>【図 11. <u>B 亜型検査のフローチャート</u>】</p> <p>(新設)</p>	<p>(2) ABO亜型の進め方</p> <p>ABO 血液型検査においてモノクローナル抗 A や抗 B 試薬で部分凝集や反応の減弱(≤3+)、または陰性でオモテ・ウラ不一致が認められた場合には、その一因として疾患による抗原減弱や ABO 亜型を疑う。亜型の詳細な分類は輸血前検査として必須ではないが、<u>原因が亜型によるものであることを確認する必要がある。下記のフローチャートにしたがって原因が亜型によるものであるかを鑑別することができる。</u></p> <p><u>抗 A または抗 B 吸着解離試験は O 型との鑑別に有用であり、原則としてオモテ・ウラ不一致を認めた際に実施する。本検査で解離液から抗 A または抗 B が証明された場合は、抗体に対する抗原が赤血球上に多少とも存在している可能性が高い。また、主な亜型の鑑別には抗 A₁ レクチンや唾液中和試験または糖転移酵素活性測定が役立つ。下記の3つのフローチャートで解決できない場合は、専門機関への相談も考慮する。</u></p> <p>注：輸血についてはⅢ-2 を参照する。</p> <p>：試験管法での基準であり、他の検査方法では添付文書に従い再検基準を設ける。</p> <p>【図 10. <u>抗 A との反応が弱いまたは部分凝集を認めた場合のフローチャート</u>】</p> <p>【図 11. <u>抗 B との反応が弱いまたは部分凝集を認めた場合のフローチャート</u>】</p> <p>【図 12. <u>オモテ・ウラ不一致またはウラ検査の反応が弱いと推定される場合のフローチャート</u>】</p>
<p>P16</p> <p>【表 7. Rhコントロール陽性への対処法】</p>	<p>2) 温式自己抗体 (IgG) による非特異的反応</p> <p>(1) 通常は、IgMモノクローナル抗Dを含む試薬で再検査する。</p> <p>(2) 直接抗グロブリン試験が強陽性のため自己対照が陽性となる場合は、クロロキン2リン酸液で被検赤血球を処理したのち再検査する。</p>	<p>2) 温式自己抗体 (IgG) による非特異的反応</p> <p><u>温式自己抗体 (IgG) により直接抗グロブリン試験 (DAT) が陽性であっても、通常低タンパク濃度モノクローナル抗D試薬を使用する直接凝集法で判定できる。しかし、DATが強陽性のため直接凝集法でRhコントロールも陽性である</u></p>

		場合は、クロロキン2リン酸で被検赤血球を処理したのち再検査する。
P16 3. 不規則抗体陽性（不規則抗体同定）への対応	<p>(2) 抗体同定までの検査手順</p> <p><u>規則抗体スクリーニングが陽性となったら、まず陽性を呈したスクリーニング赤血球の反応態度から「可能性の高い抗体」を推定する。次に、陰性を呈したスクリーニング赤血球から量的効果を考慮して消去法を行い、「否定できない抗体」を推定する。ただし、引き続き抗体同定に進む場合には「可能性の高い抗体」の推定を省略できる。パネル赤血球による抗体同定においても、Ⅱ規則抗体スクリーニング時と同様に「可能性の高い抗体」と「否定できない抗体」を推定する。複数の抗体特異性が存在する場合には、追加試験や追加パネルによる検査を行って抗体特異性を絞り込む。最終的に、Ⅱ規則抗体はすべての検査結果や患者情報などを総合的に評価して同定する。</u></p> <p><u>【図13. スクリーニング陽性から抗体同定までの手順】</u></p>	<p>(2) 抗体同定までの検査手順</p> <p><u>不規則抗体の特異性の決定は下記の手順に沿って実施する。</u></p> <p><u>1) 不規則抗体スクリーニングでは、陽性/陰性の判断を行う。</u></p> <p><u>2) 不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、陰性を呈したスクリーニング赤血球から量的効果を考慮して消去法を行い、「否定できない抗体」を推定する。</u></p> <p><u>3) パネル赤血球による抗体同定を行う。</u></p> <p><u>4) パネル赤血球の反応態度から「可能性の高い抗体」、次に不規則抗体スクリーニングと同様に消去法を実施し「否定できない抗体」を推定する。</u></p> <p><u>5) 複数の抗体特異性が存在する場合には、追加試験や追加パネルによる検査を行って抗体特異性を絞り込む。</u></p> <p><u>6) 抗体特異性の決定は、不規則抗体スクリーニングで得られた「否定できない抗体」と、同定パネルから得られた「可能性の高い抗体」、「否定できない抗体」などの結果や患者情報などを総合的に評価して抗体の特異性を同定する。</u></p> <p><u>【図13. スクリーニング陽性から抗体同定までの手順】 * 図の変更</u></p>
P18 3. 不規則抗体陽性（不規則抗体同定）への対応	<p>(3) 消去法</p> <p>消去法とは、陰性反応を呈したパネル赤血球のもつ主要抗原に対する抗体を一つずつ除外して、患者が保有する抗体の特異性を推定する方法をいう。その際、Rh、Kidd、Duffy、MNSの各血液型抗原に対する抗体については、量的効果を考慮して消去法を行う。その際、抗原表に記載してある赤血球抗原の「+」の上に『×』（除外）または『/』（保留）を、以下のルールに従</p>	<p>(3) 消去法</p> <p>消去法とは、<u>間接抗グロブリン試験で陰性反応を呈したパネル赤血球のもつ主要抗原に対する抗体を一つずつ除外して、患者が保有する抗体の特異性を推定する方法をいう。</u>その際、Rh、Kidd、Duffy、MNSの各血液型抗原に対する抗体については、量的効果を考慮して消去法を行う。その際、抗原表に記載してある赤血球抗原の「+」の上に『×』（除外）または『/』（保留）を、以下のルールに従</p>

	<p>って表記する。</p> <p><u>【図14. 消去法の実際】</u></p>	<p>を、以下のルールに従って表記する。</p> <p><u>【図14. 消去法の実際】</u></p> <p><u>*図の修正（可能性の高い抗体、否定できない抗体の例を削除）</u></p>
<p>P18</p> <p>V. 患者検体</p> <p>2. 検体</p>	<p>1) ABO 血液型の確定には、異なる時点で別々に得られた患者検体が少なくとも2本必要である。</p> <p>2) 過去 <u>3カ月</u>以内に輸血や妊娠歴のある患者では、予定輸血日の3日前を目安に採取する。</p> <p>3) 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(72時間)ごとに検体を採血する。</p> <p>4) 検査後の患者血漿(血清)は<u>輸血副作用</u>等の発生に備え、冷凍保存用サンプルチューブに入れて、-20℃以下で <u>3カ月</u>以上可能な限り(2年間を目安に)保存する。</p> <p>5) 検査後の患者赤血球沈渣と赤血球製剤のセグメントチューブも<u>溶血性輸血副作用</u>発生時の抗原検査に備え、4℃で少なくとも2週間程度保存するのが望ましい。</p>	<p>1) ABO 血液型の確定には、異なる時点で別々に得られた患者検体が少なくとも2本必要である。</p> <p>2) 過去 <u>3カ月</u>以内に輸血や妊娠歴のある患者では、予定輸血日の3日前を目安に採取する。</p> <p>3) 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(72時間)ごとに検体を採血する。</p> <p>4) 検査後の患者血漿(血清)は<u>輸血副反応</u>等の発生に備え、冷凍保存用サンプルチューブに入れて、-20℃以下で <u>3カ月</u>以上可能な限り(2年間を目安に)保存する。</p> <p>5) 検査後の患者赤血球沈渣と赤血球製剤のセグメントチューブも<u>溶血性輸血反応</u>発生時の抗原検査に備え、4℃で少なくとも2週間程度保存するのが望ましい。</p>
<p>P20</p> <p>VI. 器材・器具・試薬</p> <p>3. 主な試薬</p> <p>(3) 交差適合試験と不規則抗体検査</p>	<p>7) 0.85~0.9%生理食塩液（または局方生理食塩液）</p> <p>（新設）</p>	<p>7) 0.85~0.9%生理食塩液（または局方生理食塩液または pH7.3 リン酸緩衝生理食塩液(PBS)）</p> <p><u>8) 0.85~0.9%リン酸緩衝生理食塩液(PBS)：分子標的治療薬(グラツムマブ)投与患者の不規則抗体スクリーニングまたはパネル検査のための DTT 処理赤血球作成時</u></p>