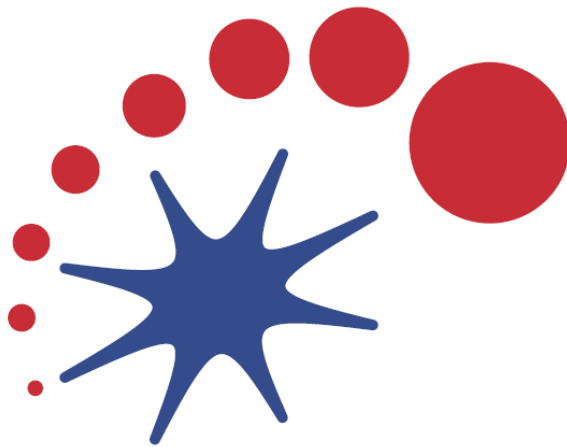


# 輸血のための検査マニュアル

Ver.1.4

(案)



日本輸血・細胞治療学会  
輸血検査技術講習委員会

## 前 文

本書は、安全な輸血に最小限必要な知識と技術についてまとめた検査マニュアルである。

本書では、ABO および RhD の血液型、交差適合試験、不規則抗体スクリーニング、直接抗グロブリン試験を主幹とし、それぞれの操作手順については初心者や日頃輸血検査に携わらない技師にも容易に理解できるよう図示した。とくに、輸血の安全性を最終確認する交差適合試験の操作手順については、自動検査機器が故障した際でも用手法で容易に検査できるよう詳細に記述した。

また、日常検査で時に遭遇する‘オモテ・ウラ不一致’、‘Rh コントロール陽性’や‘不規則抗体スクリーニング陽性’の主な原因と対処法については、問題解決の手掛かりとなるよう「予期せぬ反応に対する考え方」で簡潔に述べた。ABO 亜型の鑑別方法に関して「別紙：ABO 亜型 鑑別フローチャート」を新設し、フローチャートをもとに進める事で、より詳細なABO 亜型の鑑別が可能な仕様とした。

安定した検査結果を得るためには、「基本操作」の習得が必要である。特に、交差適合試験や不規則抗体スクリーニングにおいて的確に同種抗体を検出するためには、「患者検体」は適切な時期に入手して実施することが望ましい。「器材・器具・試薬」も自施設に適したものを選択し、適正に用いることが求められる。

本書に記載した基本的な知識や技術は、すべて安全な輸血に直結するものである。本書が日常の輸血検査のみならず、各地域の研修会などで広く活用されることを望む。

なお、本書の内容は『輸血・移植検査技術教本』、『赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン改訂4版』、『輸血療法の実施に関する指針（改正版）』や『危機的出血への対応ガイドライン』に基づいている。詳細については、これらのテキストやガイドラインを参照されたい。

2024年3月吉日

輸血検査技術講習委員会

委員長 井手 大輔

# 目次

	ページ
<b>I. 基本操作</b> -----	1~3
1. 2~5%赤血球浮遊液の調製法	
2. 赤血球の洗浄法（抗グロブリン試験の洗浄手順）	
3. 試薬・検体の分注	
4. 凝集の見方	
<b>II. 検査法</b> -----	4~13
1. ABO、RhD 血液型検査	
2. 不規則抗体スクリーニング	
3. 交差適合試験	
4. 直接抗グロブリン試験	
<b>III. 輸血用血液製剤の選択</b> -----	14~15
1. ABO 血液型が確定できない患者への輸血	
2. ABO 亜型患者への輸血	
3. 緊急時および大量輸血	
4. RhD 陰性（陰性疑い）および weak D 患者への輸血	
5. 不規則抗体陽性患者への輸血	
<b>IV. 予期せぬ反応に対する考え方</b> -----	16~22
1. オモテ・ウラ不一致への対応	
(1) 病態が ABO 血液型検査に与える影響と対処法	
(2) ABO 亜型検査の進め方	
別紙) ABO 亜型 鑑別フローチャート	
2. Rh コントロール陽性への対応	
3. 不規則抗体スクリーニング陽性（不規則抗体同定）への対応	
(1) 抗体同定検査におけるポイントと対処法	
(2) 抗体同定までの検査手順	
(3) 消去法	
<b>V. 患者検体</b> -----	22~23
1. 採血	
2. 検体	
<b>VI. 器材・器具・試薬</b> -----	23~25
1. 主な器材類	
2. 主な器具類	
3. 主な試薬類	
4. 機器および試薬の精度管理	

## I. 基本操作

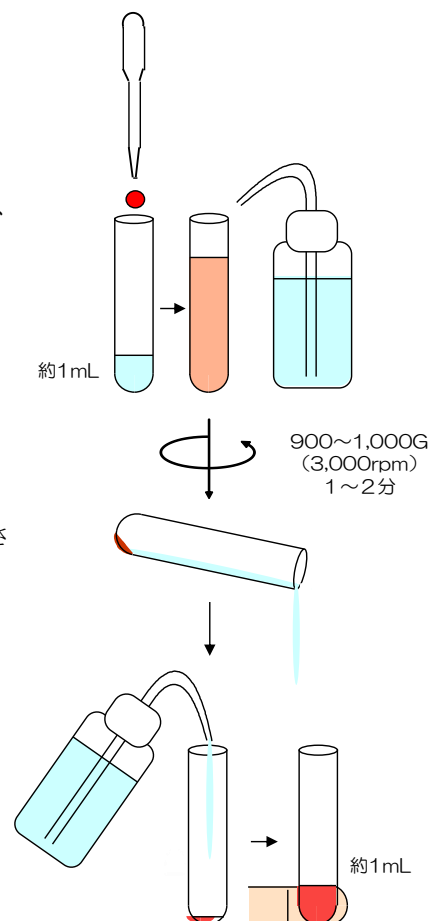
### 1. 2～5%赤血球浮遊液の調製法

- 1) 検体は、検体分離用遠心機で1,200G(3,000rpm)5分遠心し、患者氏名(または識別番号)を明記した試験管に血漿(血清)を分取する。
- 2) 患者氏名を明記した赤血球浮遊液用の試験管に生理食塩液約1mLを入れ、スポイトで赤血球沈渣1滴(約50 $\mu$ L)を加える。
- 3) よく混和後、洗浄ピンで生理食塩液を飛び散らないよう勢いよく入れ、試験管の7～8分目まで満たす。
- 4) 判定用遠心機の900～1,000G(3,000～3,400rpm)で1～2分遠心する。
- 5) 赤血球沈渣が流れ出ないように試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる(スポイトなどを用いてもよい)。
- 6) 生理食塩液を約1mL再添加し、2～5%赤血球浮遊液に調製する。  
目安として人差し指一横指： $\Phi$ 12 $\times$ 75mm試験管底から約10～15mmの高さ

注1：迅速な生理食塩液の分注には洗浄ピンが最も簡便であるが、スポイト、マイクロピペットや分注器などを用いてもよい。

注2：赤血球浮遊液の濃度は、赤血球試薬の色調や自動血球計数装置のヘマトクリット値を参考にして調製するとよい。

注3：通常、試験管法においては1滴量 $\approx$ 50 $\mu$ L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。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50 $\mu$ Lとなるよう、あらかじめ確認しておく。



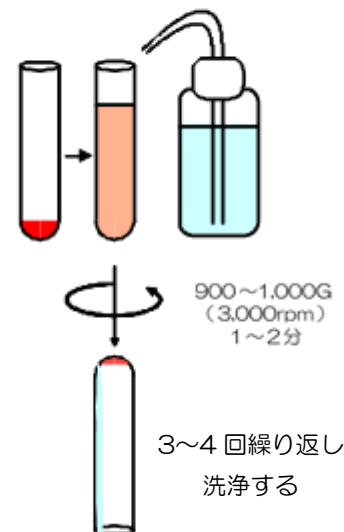
【図1. 2～5%赤血球浮遊液の調製方法】

### 2. 赤血球の洗浄法(抗グロブリン試験の洗浄手順)

- 1) 2～5%赤血球浮遊液1滴が入った試験管に、洗浄ピン<sup>注1</sup>で生理食塩液を飛び散らないよう勢いよく入れ、試験管の7～8分目まで満たす。
- 2) 判定用遠心機の900～1,000G(3,000～3,400rpm)で1～2分遠心する。
- 3) 試験管を垂直に傾け、素早く生理食塩液を捨てる(スポイトなどを用いてもよい)。
- 4) 1)～3)を3～4回繰り返す。
- 5) 最終洗浄の際は生理食塩液を十分に除去する<sup>注2</sup>。

注1：迅速な生理食塩液の分注には洗浄ピンが最も簡便であるが、スポイト、マイクロピペットや分注器などを用いてもよい。

注2：試験管の縁に残った水分をペーパータオルなどでふき取る。



【図2. 赤血球の洗浄方法】

### 3. 試薬・検体の分注

#### (1) 検査用試験管の準備

- 1) 検査用試験管に患者氏名(または識別番号)や試薬名を明記する(例えば、スクリーニング赤血球やパネル赤血球の番号など)。
- 2) 分注ミスを避けるため、検査用試験管は識別番号や試薬名などがよく見えるよう管口をきちんとそろえて試験管立てに準備する。

#### (2) 赤血球試薬と赤血球浮遊液

- 1) 赤血球試薬や赤血球浮遊液は必ず使用時に転倒混和またはスポイトでよく混和し、濃度を均一にしてから用

いる。

2) 赤血球試薬の濃度を一定に保つため、分注後にスポイト内に残った試薬はすべて元の浮遊液へ戻す。

### (3) 試薬と検体の分注操作手順と留意点

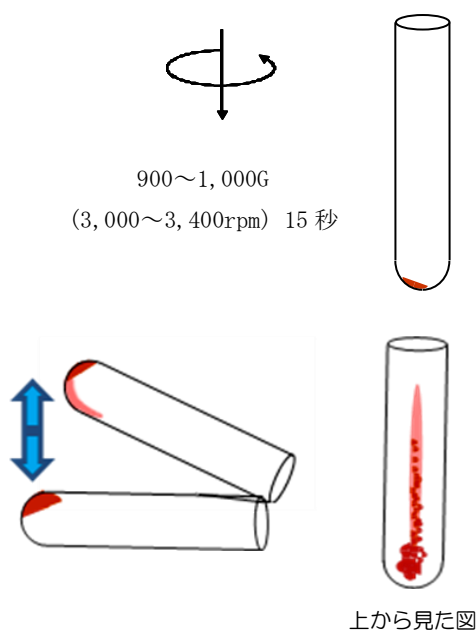
- 1) 同一患者の血漿（血清）および赤血球浮遊液は、整列して試験管立てに並べる。
- 2) 分注忘れを目視確認できるよう、色の薄い被検血漿（血清）や抗体試薬は赤血球試薬や赤血球浮遊液よりも先に添加する。ただし、一部の解離液のように色が濃い溶液の場合は、赤血球試薬を先に分注してから添加する。
- 3) 試薬や検体を分注する際は、スポイトの先端が試験管に触れないよう注意し、管底へ直接滴下する。
- 4) 試薬と検体の分注状態については、次のステップへ移る前に必ず目視確認する。
- 5) インキュベーション（抗原抗体反応）は、試験管をよく振って試薬と検体を十分に混和してから行う。

## 4. 凝集の見方

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。

### (1) 凝集と背景の色調の観察

- 1) 判定用遠心機で試験管を 900～1,000G (3,000～3,400rpm) 15 秒遠心する。
- 2) 遠心後、静かに試験管を取り出し、まず溶血の有無を観察する。
- 3) 下図のようにセルボタンを上にして沈渣を流し、試験管を傾けながら凝集の有無を観察する。
- 4) セルボタンを流すのは試験管の約 2/3 までとし、凝集塊の大きさや数から反応強度を判定する。
- 5) セルボタンがほぐれ、均一に再浮遊するまで 3) 4) を繰り返す。



遠心後、白色（光）を背景にし、まず上清の溶血の有無を確認する。

セルボタンを上にして、引き続き試験管を傾け、流れ出す際に認められる凝集塊の有無をよく観察する。

※ 陰性では、赤血球塊の非凝集赤血球は管底を伝って均一に流れ出し、管壁を糸状に流れる。陽性(w+～1+)では、均一なセルボタンの流れの中に微小凝集塊などによって出来る線条痕を認めることがある。

反応の強さは、試験管を傾けながらセルボタンを管底から剥がす様に観察する。

### 【図 3. 凝集判定の見方】

凝集塊の大きさや数、背景の色調（非凝集赤血球の濁り）を基準にして分類する。

(2) 凝集反応の分類\*

【表 1. 凝集反応の分類】

反応強度	スコア	特徴と外観	背景の色調
4+	12	1個の大きな凝集塊	透 明
3+	10	数個の大きな凝集塊	透 明
2+	8	中程度の凝集塊	透 明
1+	5	小さな凝集塊	赤く濁る
w+	2	ごくわずかな微小凝集	赤く濁る
0	0	凝集も溶血も見られない	赤く濁る
mf		部分凝集	赤く濁る
H(PH)		完全溶血（部分溶血）	赤く透明(濁る)

mf : mixed field agglutination、H : hemolysis、PH : partial hemolysis

\*Technical Manual 16th, AABBから一部改変して引用

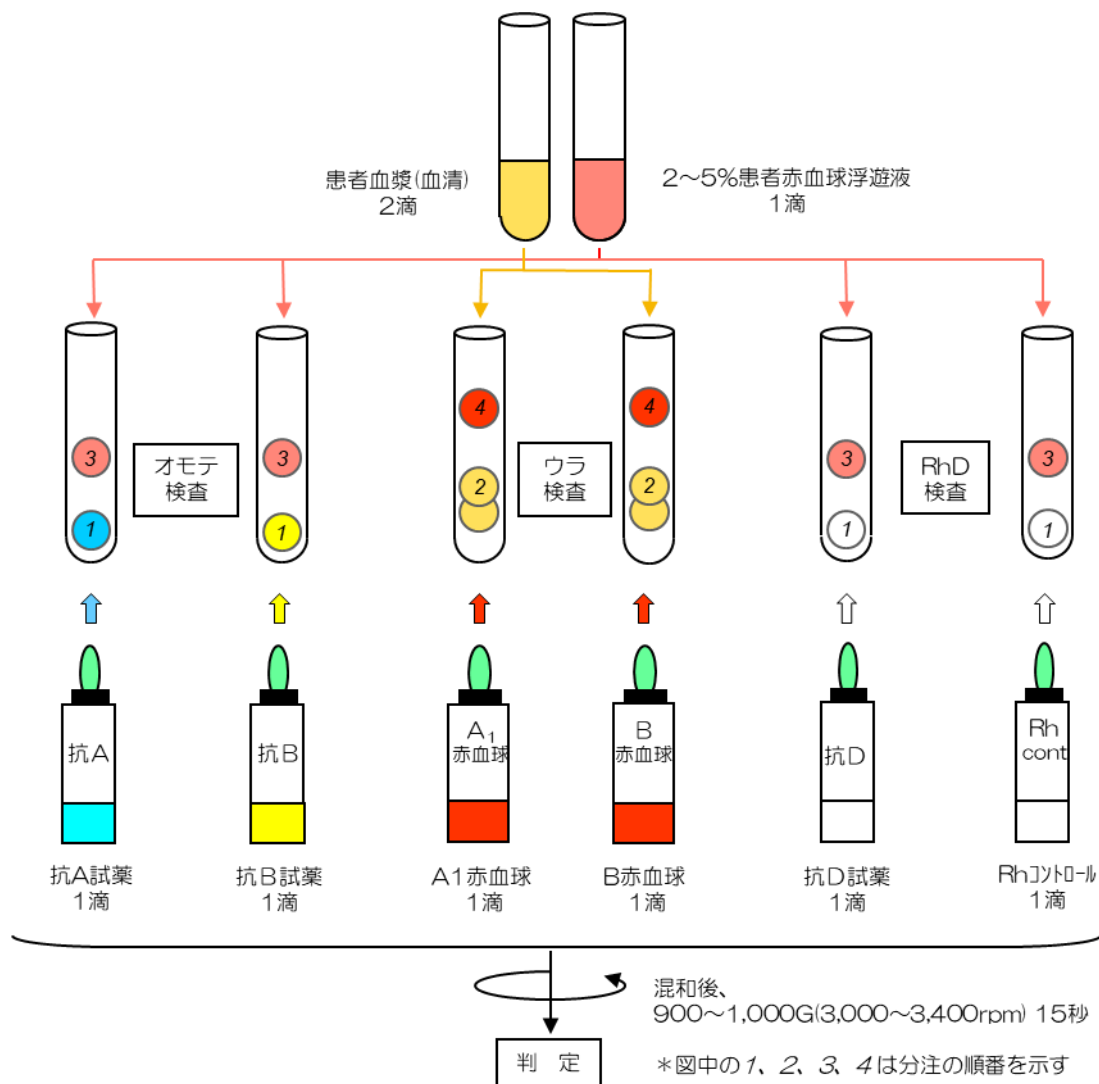
## II. 検査法

### 1. ABO、RhD 血液型検査

#### (1) 操作手順

- 1) 患者検体は1,200G(3,000rpm) 5分遠心し、患者氏名(または識別番号)を明記した試験管に血漿(血清)を分取する。
- 2) 試験管7本(赤血球浮遊液用:1本、検査用:6本)を準備する。
- 3) 赤血球浮遊液用と検査用の試験管に患者氏名(または識別番号)と試薬名を明記する。
- 4) 赤血球浮遊液用試験管に2~5%患者赤血球浮遊液を調製する。
- 5) 抗A、抗B、抗D、Rhコントロール(Rh cont)の試験管にそれぞれの試薬を1滴滴下する。
- 6) ウラ検査用試験管に血漿(血清)を2滴ずつ滴下する。
- 7) 患者血漿(血清)や抗体試薬の分注もれを確認する。
- 8) 5) のオモテ検査およびRhD検査用試験管に2~5%患者赤血球浮遊液を1滴ずつ滴下する。
- 9) ウラ検査用試験管によく混和したA<sub>1</sub>赤血球とB赤血球の試薬を1滴滴下する。
- 10) 患者赤血球浮遊液や赤血球試薬の分注もれを確認し、よく混和する。
- 11) 試験管を900~1,000G(3,000~3,400rpm)15秒遠心する。
- 12) 凝集や溶血の有無を観察し、判定結果(反応強度)を記録する。

注: Rhコントロールは抗D試薬の添付文書に従う。



【図4. ABO、RhD 血液型検査の手順】

(2) ABO 血液型判定

【表 2. ABO 血液型判定表】

オモテ検査			ウラ検査			判定
抗A	抗B	結果	A <sub>1</sub> 赤血球	B赤血球	結果	
+	0	A型	0	+	A型	A型
0	+	B型	+	0	B型	B型
0	0	O型	+	+	O型	O型
+	+	AB型	0	0	AB型	AB型

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。

注 2：抗 M、抗 P1、抗 Le<sup>a</sup>、抗 Le<sup>b</sup>などの低温反応性の抗体が、オモテ・ウラ不一致に関与している場合がある。

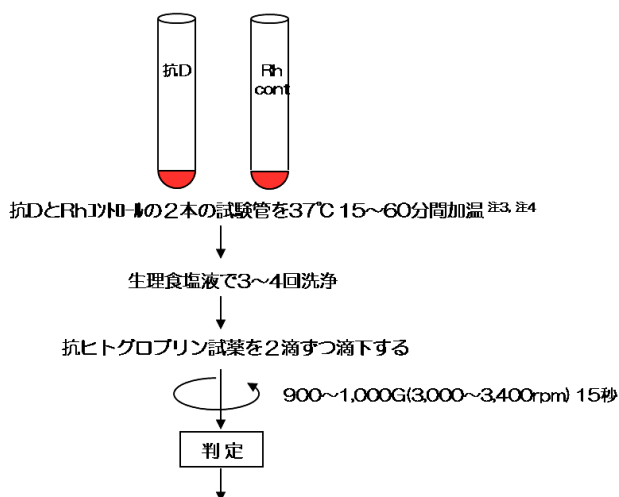
注 3：オモテ検査で部分凝集(mf: mixed field agglutination)を認めた場合は、ABO 血液型異型の輸血や造血幹細胞移植、血液疾患などによる抗原減弱、垂型の一部 (A<sub>3</sub>、B<sub>3</sub>)、キメラ等が疑われるため、必ず輸血歴や移植歴を確認する。

注 4：オモテ検査とウラ検査の結果が一致しない場合は、判定を保留しその原因を精査する (IV-1 オモテ・ウラ不一致、参照)。なお、ウラ検査では Bombay (Oh) 型や para-Bombay (Ah、Bh) 型患者が保有する自然抗体(抗 H や抗 HI)の有無などを確認するため、必要に応じて 0 型赤血球を用いて検査する。

(3) RhD 血液型判定

【表 3. RhD 血液型判定表】

直後判定			D陰性確認試験		
抗D試薬	Rhコントロール	判定	抗D試薬	Rhコントロール	判定
+	0	D陽性	不要		
0	0	判定保留 <sup>*1</sup>	0	0	D陰性
			+	0	weak D
+	+	判定保留 <sup>*2</sup>			



陰性の場合、IgG感作赤血球を1滴加えて再遠心し、凝集することを確認する

注 1：「判定保留<sup>\*1</sup>」を確定するためには、直後判定後、引き続き上記の「D 陰性確認試験」を行う。

注 2：Rh コントロールが陽性となった場合は判定保留<sup>\*2</sup>とし、その原因を精査する (IV-2 参照)。

注 3：反応時間については、試薬の添付文書に従う。

注 4：D 陰性確認試験には、IgG 性抗 D を含む試薬を用いる。

【図 5. D 陰性確認試験の手順】



## 2. 不規則抗体スクリーニング

臨床的意義のある 37°C 反応性の同種抗体を検出するため、不規則抗体スクリーニングでは必ず間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test: IAT) を実施する。以下に、生理食塩液法から反応増強剤を用いる IAT の操作手順について示す。生理食塩液法の目的は低温反応性の抗体を積極的に検出するためではなく、引き続き行う間接抗グロブリン試験で陽性を示した場合、その原因が低温反応性の抗体にあるかを推察するためである。

不規則抗体スクリーニングが臨床的意義のある同種抗体などによって陽性となった場合は、抗体を同定し抗原陰性血を選択する。抗体同定のための検査のポイントや手順については、IV-3 を参照する。

### (1) 操作手順

#### 【生理食塩液法】

- 1) 検体は 1,200G (3,000rpm) 5 分遠心し、患者氏名 (または識別番号) を明記した試験管に血漿 (血清) を分取する。
- 2) スクリーニング赤血球の本数分の検査用試験管を用意する (自己対照は不要)。
- 3) 検査用試験管に患者氏名 (または識別番号)、スクリーニング赤血球の番号等を明記する。
- 4) 検査用試験管に患者血漿 (血清) を 2 滴ずつ滴下する。
- 5) 患者血漿 (血清) の分注もれを確認する。
- 6) スクリーニング赤血球 (Di<sup>a</sup> 抗原陽性を含む) をよく混和し、1 滴ずつ滴下する。
- 7) スクリーニング赤血球の分注もれを確認し、よく混和する。
- 8) 試験管を 900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15 秒遠心する。
- 9) 凝集や溶血の有無を観察し、判定結果 (反応強度) を記録する。

#### 【間接抗グロブリン試験】

- 10) 引き続き、7) の試験管に反応増強剤 (PEG もしくは LISS) を 2 滴ずつ加え、よく混和後、37°C で 10~15 分加温する。
- 11) 生理食塩液で 3~4 回洗浄する (最終洗浄後の生理食塩液は完全に除去する)。
- 12) 洗浄後、抗ヒトグロブリン試薬 (PEG-IAT では抗 IgG 試薬) を 2 滴ずつ加え、よく混和する。
- 13) 試験管を 900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15 秒遠心する。
- 14) 凝集や溶血の有無を観察し、判定結果 (反応強度) を記録する。
- 15) 陰性を呈した試験管に IgG 感作赤血球を 1 滴ずつ加え、よく混和後、900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15 秒遠心し、IgG 感作赤血球が凝集することを確認する。

注 1: 輸血日を含む 3 日以内に採血した検体で検査を実施する。過去 3 か月以内に輸血歴や妊娠歴がない場合には、輸血日を含む 7 日以内に採血した検体で実施してもよい。

注 2: 自己対照は不要である。ただし、抗体同定の際には自己対照として必ず実施する。

注 3: 試薬の添加量、反応時間や洗浄回数は試薬の添付文書に従う。

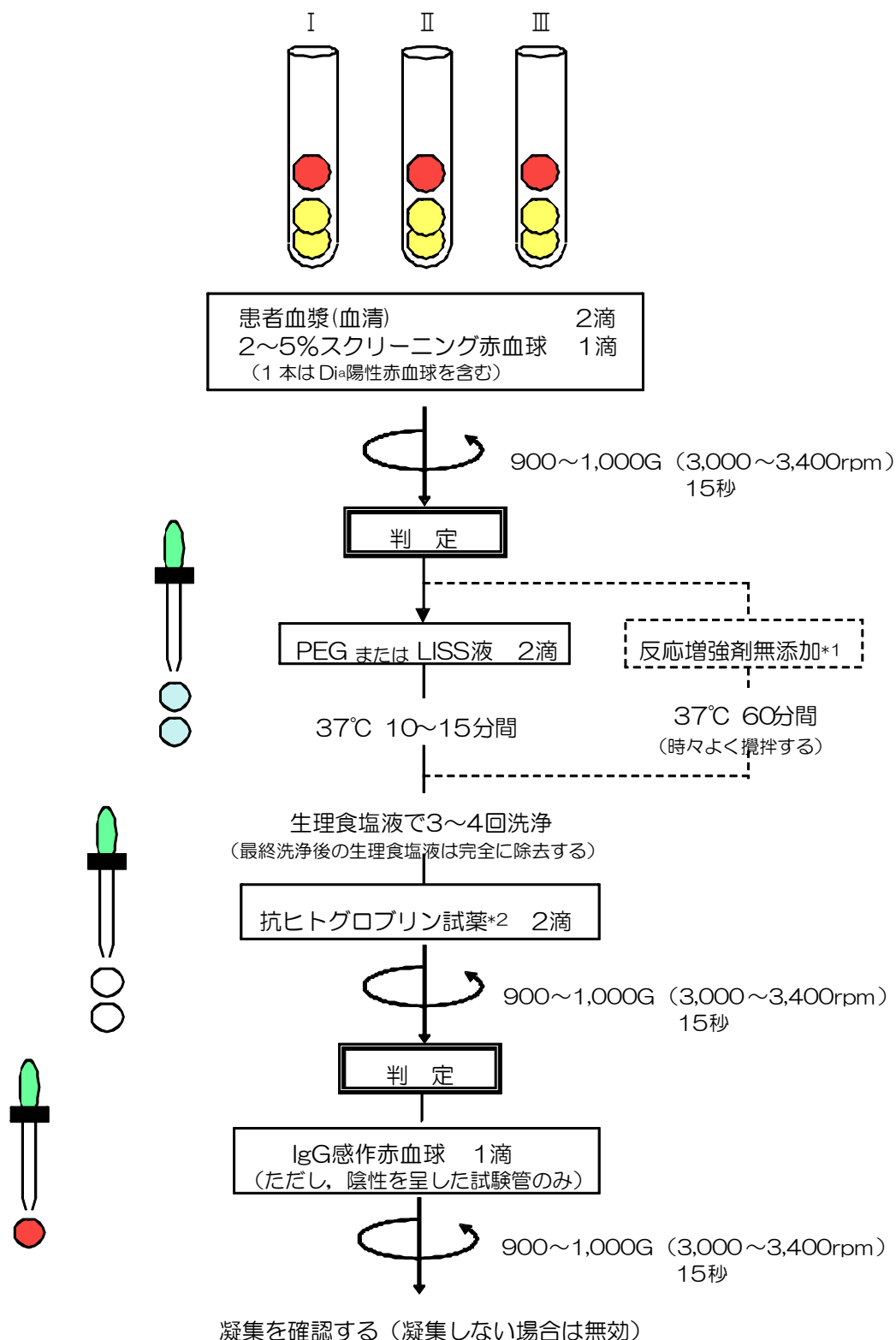
注 4: 生理食塩液法で凝集を認めた場合は 37°C で 5~10 分加温し、遠心後、凝集の有無を確かめる。凝集が減弱または消失した場合は低温反応性の抗体を疑う。

注 5: 低温反応性の抗体の影響によって、反応増強剤添加の間接抗グロブリン試験が陽性となることがある。その際、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験で陰性化する抗体にほとんど臨床的意義はない。

注 6: 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。

注 7: Bombay (Oh) 型や para-Bombay (Ah, Bh) 型の患者は自然抗体として抗 H や抗 HI を保有するため、H 抗原のある O 型赤血球と反応し、不規則抗体スクリーニングでは陽性となる。





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

\*1 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添加の間接抗グロブリン試験(IAT)でも陽性となることがある。その場合には、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験を試みる。

\*2 PEG-IATでは抗IgG試薬を用いる。

【図6. 不規則抗体スクリーニングの手順】

### 3. 交差適合試験

交差適合試験は受血者と供血者間の適合性を確認するために行う。生理食塩液法は ABO 血液型の不一致（主・副試験）、間接抗グロブリン試験（主試験）は 37℃で反応する臨床的意義のある抗体や低頻度抗原に対する抗体を検出する。血液製剤との反応のみならず、自己対照を含めた検査を行うことが望ましい。また、安全な輸血のためには、あらかじめ不規則抗体スクリーニングを行う。

ただし、日本赤十字血液センターの製剤を用いる場合には患者の血液型が 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副試験は省略できる。

#### (1) 患者検体の採血時期

- 1) 検体誤認による 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、輸血日を含む 3 日以内に新たに採取された検体で実施する。
- 2) 連日にわたって輸血を受けている患者では、検体は少なくとも 3 日ごとに採取する。

#### (2) 輸血用血液製剤の選択

- 1) 原則として、患者と ABO 血液型が同型の輸血用血液製剤を用いる。
- 2) RhD 陰性患者には RhD 陰性の輸血用血液製剤を用いる。
- 3) 患者が 37℃反応性の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二次免疫応答による遅発性溶血性輸血反応 (DHTR) を防止するため、対応抗原陰性血を用いる（Ⅲ-5 参照）。

#### (3) 結果の解釈

- 1) 原則として、主試験が間接抗グロブリン試験で「陰性」の場合のみを適合とする。
- 2) 不規則抗体スクリーニング陰性で交差適合試験が陽性となった場合は、以下の可能性を考慮する。
  - ・低頻度抗原に対する抗体の存在。
  - ・供血者赤血球の直接抗グロブリン試験陽性。
  - ・患者と異なる ABO 血液型の輸血用血液製剤を選択した場合。
- 3) 新生児で、主試験が陽性の場合には以下のことを考慮する。
  - ・O 型以外の赤血球液を用いた場合は母親由来の IgG 型抗 A または抗 B の存在。
  - ・母親由来の不規則抗体の存在。
  - ・まれに児が産生した不規則抗体の存在。
- 4) 交差適合試験では以下の場合に生じる患者と供血者の不適合を検出できないことがある。
  - ・患者が量的効果を示す抗原に対する抗体を保有し、供血者赤血球の当該抗原がヘテロ接合体であると、抗体価が低い場合には結果が陰性となることがある。  
注：量的効果を示す抗原については、IV-3-(3)を参照。
  - ・患者または供血者の RhD 誤判定や事務的ミス。
- 5) 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。  
主試験(-)、自己対照(+)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。

#### (4) 胎児・生後 4 か月未満の児のための交差適合試験と適合血の選択

母親が O 型で児が A 型や B 型である場合、児は母親由来の IgG 型抗 A や抗 B を保有することがある。そのため、同型の赤血球液を輸血する場合には必ず間接抗グロブリン試験による交差適合試験（主試験）を行う。主試験が陽性となったら、まず母親由来の IgG 型抗 A や抗 B を疑い、赤血球液を同型から O 型へ切り替える。引き続き交差適合試験を行い、主試験が陰性となれば輸血できる。

しかし、O 型赤血球液でも主試験が陰性とならない場合は、他の移行抗体（同種抗体）の存在を考慮する。

通常、母親に臨床的意義のある同種抗体がなければ、児への輸血は安全に行うことができる。そのため、母親の不規則抗体検査の情報は大変重要であり、可能な限り入手に努める。また、児の検体が入手困難な場合、

輸血する赤血球製剤と主試験が適合する組み合わせであれば、母親の検体で代用できる。

(5) コンピュータクロスマッチ

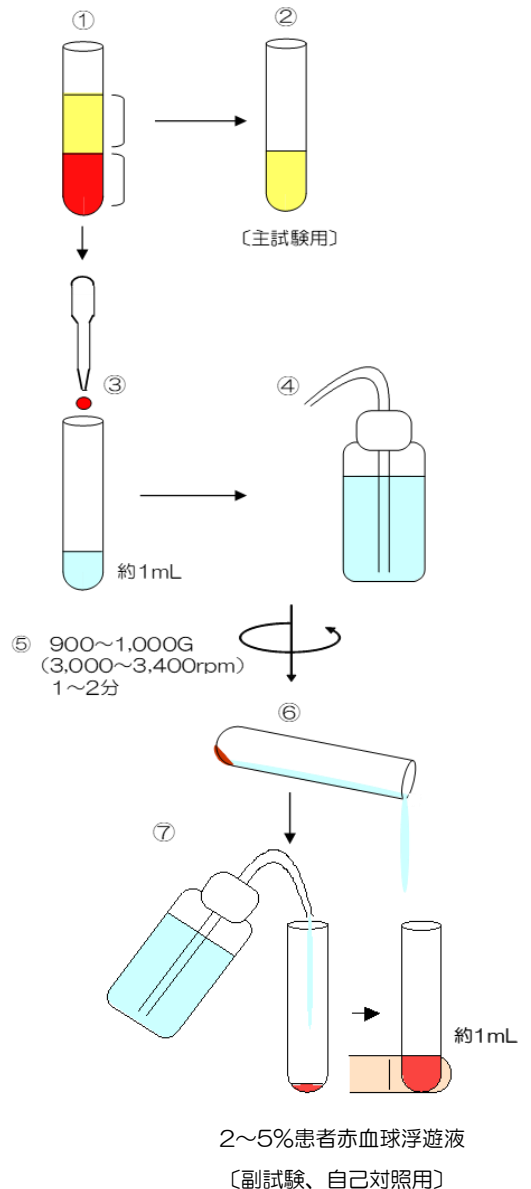
既にABOおよびRhD血液型が確定しており、臨床的意義のある不規則抗体または母親由来のIgG型抗Aまたは抗Bを保有していない、あるいは臨床的意義のある不規則抗体の保有歴がない症例において、コンピュータクロスマッチによって適合性や安全性が確認された場合は、交差適合試験を省略して出庫できる。その際、以下の条件を必須とする。

- 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。
- 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。
- 3) 不規則抗体スクリーニングにおいては、輸血日を含めた3日以内に採血された検体で検査が施行されている。
- 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。
- 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を保有していないこと。また、児のABO血液型ウラ検査後に、引き続き間接抗グロブリン試験等を行うことで、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。

(6) 操作法

1) 患者(被検)検体の前処理

- ① 血漿（血清）と患者赤血球浮遊液の試験管を準備し、患者氏名（または識別番号）を明記する。
- ② 患者検体（EDTA血または凝固血）を遠心後、上清を分取し主試験に用いる。
- ③ あらかじめ生理食塩液を約1mL入れた試験管に、患者（被検）赤血球沈渣を1滴滴下する。
- ④ よく混和後、洗浄ビンで生理食塩液を飛び散らないよう勢いよく入れ、試験管の7～8分目まで満たす。
- ⑤ 900～1,000G(3,000～3,400rpm)で1～2分遠心する。
- ⑥ 赤血球沈渣が流れ出ないように試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる（スポイト等を用いてもよい）。
- ⑦ 生理食塩液1mL（一横指）を添加して、2～5%赤血球浮遊液とし、副試験や自己対照に用いる。



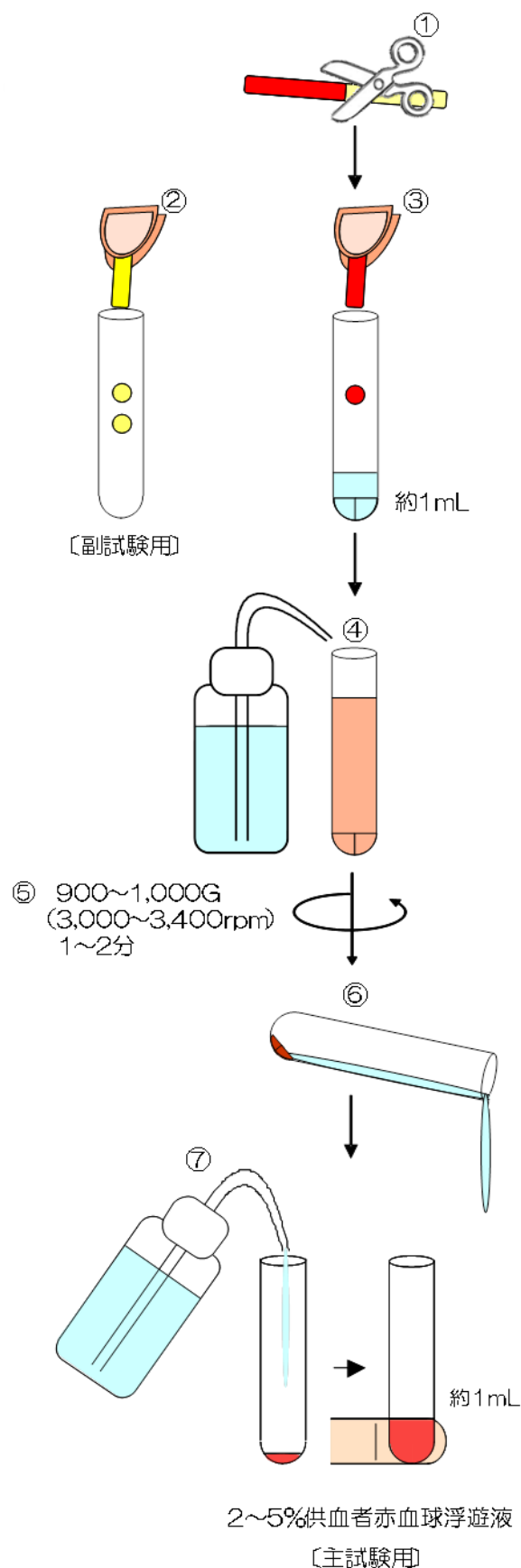
【図 7. 主試験用患者赤血球浮遊液の調製法】

## 2) セグメントチューブからの赤血球浮遊液調製法(例)

前処理：血液バッグからセグメントチューブを切り離す。チューブ内の血液が赤血球と血漿によく分離されていない場合は、チューブを試験管に入れ、遠心してから用いる。  
また、血液製剤1本あたり2本の試験管（副試験省略時は1本）を準備し、製造番号または識別番号および2～5%赤血球浮遊液調製用あるいは副試験（実施時）であることを明記しておく。

- ① 血液製剤セグメントの赤血球と血漿の境界部をハサミで切断する。
- ② 血漿を副試験用の試験管へ2滴滴下する。
- ③ 赤血球をあらかじめ生理食塩液を1mL入れた試験管（赤血球浮遊液調製用）に1滴滴下し、よく混和する。
- ④ 洗浄ビンで生理食塩液を飛び散らないよう勢いよく入れ、試験管の7～8分目まで満たす。
- ⑤ 900～1,000G(3,000～3,400rpm)で1～2分遠心する。
- ⑥ 赤血球沈渣が流れないように試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる（スポイト等を用いてもよい）。
- ⑦ 生理食塩液約1mL（一横指）を添加して、2～5%赤血球浮遊液とし、主試験に用いる。

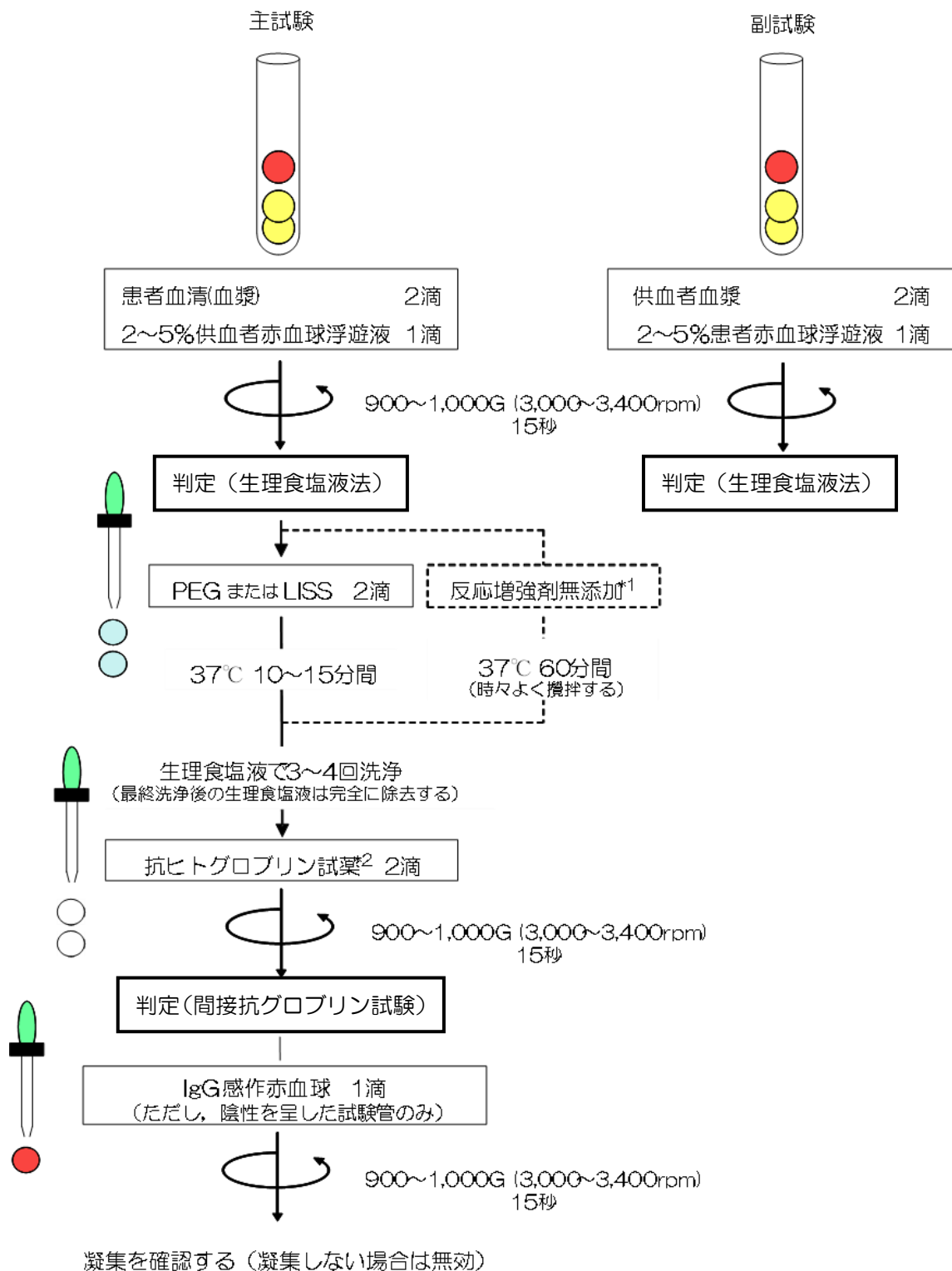
注：副試験を実施しない場合は②を省略する。



【図8. 主試験用供血者赤血球浮遊液の調製法】

### 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

\*1 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添加の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、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験を試みる。

\*2 PEG-IAT では抗 IgG 試薬を用いる。

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、副反応発生時の調査に備える。

【図 9. 交差適合試験の手順】

#### 4. 直接抗グロブリン試験

生体内で赤血球に結合している免疫グロブリンや補体成分の有無を証明するため、直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test:DAT) を実施する。

自己免疫性溶血性貧血 (AIHA) や不規則抗体に起因する溶血性輸血反応 (HTR)、胎児・新生児溶血性疾患の診断に有効である。また、薬剤起因性溶血性貧血 (DIIHA) などでも陽性反応を呈する場合がある。

##### (1) 操作手順

- 1) 1,200G (3,000rpm) 5分遠心し、患者氏名 (または識別番号) を明記した試験管に血漿 (血清) を分取する。
- 2) 赤血球浮遊液用と検査用の試験管 2本に患者氏名 (または識別番号) と試薬名を明記する。
- 3) 赤血球浮遊液用試験管に 2~5%患者赤血球浮遊液を調製する。
- 4) 2本の試験管に 2~5%患者赤血球浮遊液を 1滴ずつ加える。
- 5) 生理食塩液で 3~4回洗浄する (最終洗浄後の生理食塩液は完全に除去する)。
- 6) 試験管①に多特異抗ヒトグロブリン試薬を 2滴、試験管②に生理食塩液 2滴加えよく混和する。
- 7) 試験管を 900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒遠心する。
- 8) 凝集や溶血の有無を観察し、判定結果 (反応強度) を記録する。
- 9) ①の試験管が陰性を呈した場合、IgG感作赤血球を 1滴加え、よく混和後、900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒遠心し、IgG感作赤血球が凝集することを確認する。

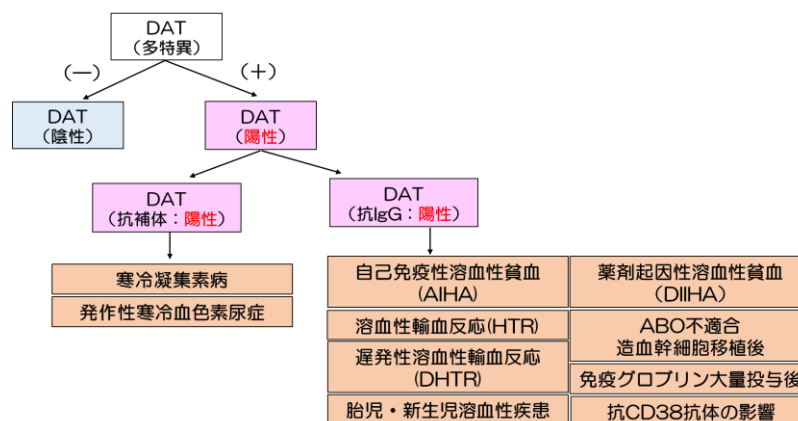
【表 4. 直接抗グロブリン試験の結果と判定】

	抗グロブリン試薬	生理食塩液	判定
結果	○	○	陰性
	+	○	陽性
	+	+	判定保留

##### 【多特異抗ヒトグロブリン試薬で陽性であった場合】

- 10) 3本の試験管に 2~5%患者赤血球浮遊液を 1滴ずつ加える。
- 11) 生理食塩液で 3~4回洗浄する (最終洗浄後の生理食塩液は完全に除去する)。
- 12) 試験管①に IgG抗ヒトグロブリン試薬を 2滴、試験管②に抗補体試薬を 2滴、試験管③に生理食塩液を 2滴加えよく混和する。
- 13) 試験管を 900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒遠心する。
- 14) 凝集や溶血の有無を観察し、判定結果 (反応強度) を記録する。
- 15) ①の試験管が陰性を呈した場合、IgG感作赤血球を 1滴加え、よく混和後、900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒遠心し、IgG感作赤血球が凝集することを確認する。

\*抗補体試薬で直後判定陰性の場合、5分程度時間をおいてから判定するとよい。



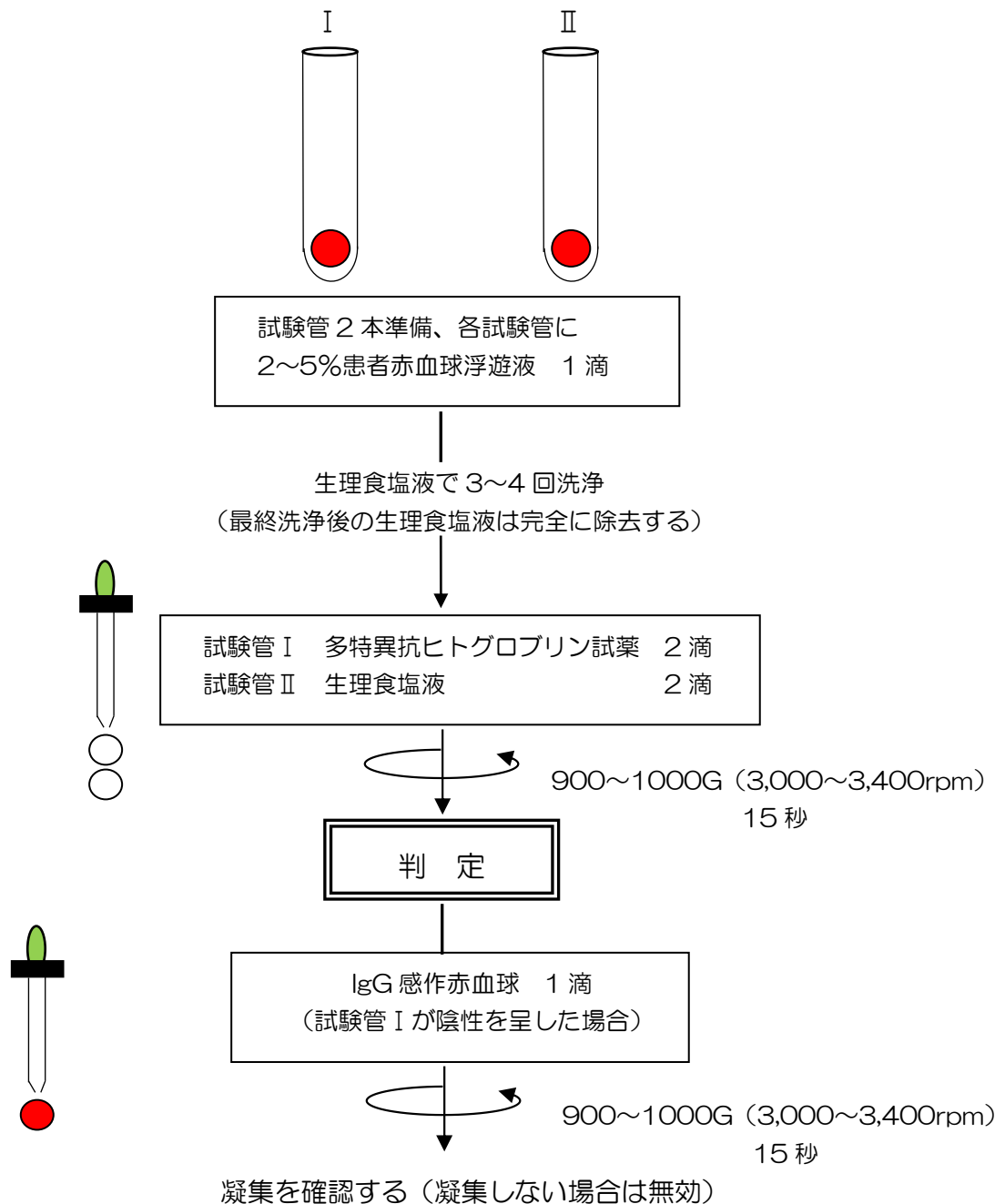
【図 10. 直接抗グロブリン試験陽性時の解釈】



注1：検体は試験管内での補体活性を阻止するため、脱カルシウム作用を有する抗凝固剤で採血した血液を用いることが望ましい。

注2：生体内での反応と区別ができないので、全血で冷蔵保管された検体で検査は行わないこと。

注3：試薬の添加量は試薬の添付文書に従う。



【図 11. 直接抗グロブリン試験の手順】

\*1 直接抗グロブリン試験陽性の場合、抗体解離試験を実施して抗体の特異性を確認する。

\*2 健常人でも直接抗グロブリン試験陽性の場合がある。

### Ⅲ. 輸血用血液製剤の選択

#### 1. ABO 血液型が確定できない患者への輸血

ABO 血液型のおモテ検査とウラ検査の結果が一致しない場合にはその原因を精査する必要があるが、血液型を確定する前に輸血が必要になった時は、赤血球製剤は O 型、血漿/血小板製剤は AB 型を選択する。

また、緊急輸血のため時間的余裕がなく ABO 血液型検査や交差適合試験が実施できない場合にも同様に、赤血球製剤は O 型、血漿/血小板製剤は AB 型を選択し輸血する。なお、ABO 血液型が患者と異なるが適合する輸血用血液製剤の選択については、『危機的出血への対応ガイドライン』を参照する。

#### 2. ABO 亜型患者への輸血

ABO 亜型患者への輸血で問題となるのは 37℃反応性の抗 A<sub>1</sub>、抗 B や抗 H の有無である。そのため、ウラ検査で抗体が検出されても反応増強剤無添加（37℃60 分）の間接抗グロブリン試験で陰性であれば、通常の A 型、B 型や AB 型の赤血球製剤を、陽性であれば O 型の赤血球製剤を選択し輸血する。ただし、稀な Bombay (Oh) 型の患者には 37℃反応性の抗 H が自然抗体として存在するため、O 型の赤血球製剤を輸血することはできない。Bombay (Oh) 型の患者には、Bombay (Oh) 型の赤血球製剤を選択し準備する。

【表 5. ABO 亜型患者への輸血用血液製剤の選択】

分類	オモテ検査		吸着解離試験	ウラ検査 (間接抗グロブリン試験)	血液製剤の血液型	
	抗A	抗B			赤血球製剤	血漿/血小板製剤
A亜型	+	O	/	A <sub>1</sub> 赤血球 (+)	O	A
				A <sub>1</sub> 赤血球 (O)	A	
	O	O		A <sub>1</sub> 赤血球 (+)	O	
				A <sub>1</sub> 赤血球 (O)	A	
B亜型	O	+	/	B赤血球 (+)	O	B
				B赤血球 (O)	B	
	O	O		B赤血球 (+)	O	
				B赤血球 (O)	B	
AB亜型	+	+	/	A <sub>1</sub> 赤血球 (+)	B	AB
				B赤血球 (+)	A	
				A <sub>1</sub> 赤血球 (+) B赤血球 (+)	O	
				A <sub>1</sub> 赤血球 (O) B赤血球 (O)	AB	
	O	+		A <sub>1</sub> 赤血球 (+)	B	
				A <sub>1</sub> 赤血球 (O)	AB	
	+	O		B赤血球 (+)	A	
				B赤血球 (O)	AB	

#### 3. 緊急時および大量輸血

時間的余裕がない場合には交差適合試験を省略し、O 型または ABO 同型の赤血球製剤を用いることができる（Ⅲ-1 参照）。ただし、ABO 同型または異型適合にかかわらず未交差で在庫した製剤については、輸血と平行して交差適合試験を実施する。ABO 同型血が不足し異型適合血を用いる場合には、『危機的出血への対応ガイドライン』や『輸血療法の実施に関する指針(改正版)』を参照する。

#### 4. RhD 陰性(陰性疑い)および weak D 患者への輸血

直後判定で凝集が認められた患者はD陽性、認められなかった患者は‘D陰性疑い’として扱う。  
 また、‘D陰性(D陰性疑い)’や‘weak D’の患者はD陰性として扱い、輸血にはD陰性血を用いる。  
 partial Dと判明している場合は、weak Dと同様に対応する。  
 なお、D陽性患者にはD陰性血も輸血できる。

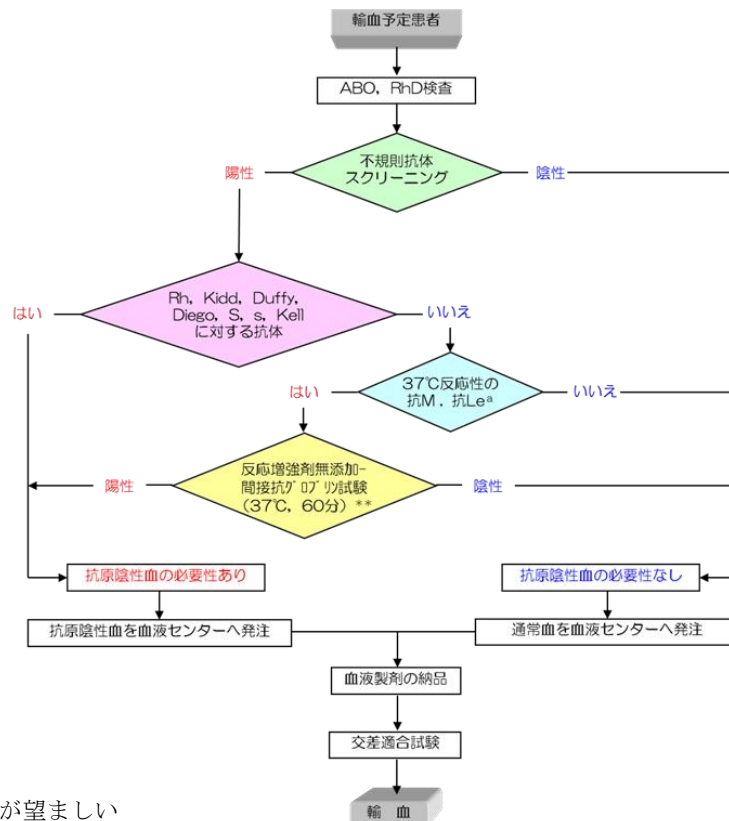
【表 6. RhD 陰性(D陰性疑い)および weak D 患者への輸血用血液製剤の選択】

分類	直後判定	D陰性確認試験	血液製剤の血液型
D陽性	+	不要	D陽性(D陰性も可)
D陰性(D陰性疑い)	0	0	D陰性
weak D	0	+	

#### 5. 不規則抗体陽性患者への輸血

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<sup>a</sup>、抗 Jk<sup>b</sup>)、Duffy (抗 Fy<sup>a</sup>、抗 Fy<sup>b</sup>)、Diego (抗 Di<sup>a</sup>、抗 Di<sup>b</sup>)、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製剤を選択し輸血する。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、対応抗原陰性血を選択する。また、37℃反応性の抗 M、抗 Le<sup>a</sup> が反応増強剤無添加(37℃60分)の間接抗グロブリン試験で陽性の場合は、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<sup>a</sup>\*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。

一方、抗 P1、抗 N、抗 Le<sup>b</sup> (ほとんど抗 Le<sup>bn</sup>)、抗 Xg<sup>a</sup>や高頻度抗原(JMH、Knops、Cost、Chido/Rodgers、KANNO 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する必要はない。



\*抗 Jr<sup>a</sup> : 抗原陰性血が望ましい

\*\*血清/血漿の 10mM DTT (dithiothreitol) 処理により、低温反応性 (IgM 型) 抗体か IgG 型抗体かを判別する方法もある。

【図 12. 不規則抗体陽性患者への適合血の選択のためのフローチャート】

## IV. 予期せぬ反応に対する考え方

### 1. オモテ・ウラ不一致への対応

#### (1) 病態が ABO 血液型検査に与える影響と対処法

ABO 血液型検査では、さまざまな原因によりオモテ・ウラ不一致が観察される。ABO 亜型などの先天性の原因の他にも、ある種の疾患や患者の病態などが ABO 血液型検査に影響を与えることがある。そのため、患者情報の収集がオモテ・ウラ不一致の原因究明にしばしば役立つことがある。

したがって、オモテ・ウラ不一致が観察された場合には、常に患者の病態をふまえた対応が必要となる。患者の臨床病態が ABO 血液型検査へ与える影響について、下記に示す。

【表 7. 患者情報と血液型検査への影響】

患者情報	検査への影響 (原因)	追加確認事項
1. 血液疾患 1) 白血病 2) MDS 3) Hodgkin 病	<ul style="list-style-type: none"> <li>オモテ検査の凝集減弱</li> <li>被凝集価の低下 (糖転移酵素活性の低下など)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>各種レクチン (抗 A1、抗 H など) との反応性をみる</li> <li>糖転移酵素活性を測定する</li> <li>被凝集価を測定する</li> </ul>
2. 寒冷凝集素症	<ul style="list-style-type: none"> <li>オモテ検査の非特異的凝集 (寒冷凝集素による感作)</li> <li>ウラ検査の非特異的凝集 (寒冷凝集素による凝集)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>検体は 37°C 以下にならないように保温して搬送する</li> <li>検体は遠心時も 37°C 以下にならないよう保温する</li> <li>オモテ検査用の赤血球浮遊液は、非特異的凝集がなくなるまで患者赤血球を 37°C 温生理食塩液で洗浄して調製する</li> <li>ウラ検査用の血漿 (血清) は患者赤血球と 4°C、1 時間放置し、寒冷凝集素を吸着除去する</li> <li>不規則抗体検査も上記と同様に患者赤血球と 4°C、1 時間放置した吸着上清を用いる</li> </ul>
3. 悪性腫瘍による型物質過剰	型物質によるオモテ検査の凝集減弱 (患者赤血球の洗浄が不十分な場合)	生理食塩液で 3 回洗浄した患者赤血球浮遊液を用いて再検査する
4. 重症感染症 1) 敗血症	<ul style="list-style-type: none"> <li>汎赤血球凝集反応 [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。]</li> <li>AcquiredB (細菌の酵素により脱アセチル化されて修飾抗原と一部の抗 B 試薬が交差反応を示す。)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>現在使用しているモノクローナル抗体試薬では潜在抗原や修飾抗原と交差反応しない (抗体試薬の反応性については添付文書を参照する)</li> </ul>
5. 一過性のキメラ状態 1) ABO 不適合輸血 2) ABO 不適合造血幹細胞移植	<ul style="list-style-type: none"> <li>オモテ検査の部分凝集像 (型違い赤血球の混合)</li> <li>ウラ検査の凝集減弱や陰性化 (型違い赤血球による抗体消費や移植後の産生能の消失)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>輸血や移植の有無について確認する</li> <li>混合赤血球は抗体試薬による分別凝集によって分離し、非凝集赤血球の血液型を再検査する</li> </ul>
6. 抗 A1、抗 B の減弱または欠損 1) 低または無 $\gamma$ グロブリン血症 2) 新生児 3) 高齢者	ウラ検査の凝集減弱 (抗体産生能の低下、消失または未発達)	<ul style="list-style-type: none"> <li>ウラ検査の反応時間の延長、血漿 (血清) の増量を行う</li> <li>免疫グロブリン (特に IgM 型) を確認する</li> </ul>
7. 不規則抗体 (低温反応性) 1) 抗 M、抗 N、抗 Le <sup>a</sup> 、抗 Le <sup>b</sup> 、抗 P1 等	ウラ検査の予期せぬ凝集 (不規則抗体による A <sub>1</sub> や B 赤血球の凝集)	不規則抗体スクリーニングを実施する
8. その他 1) 骨髄腫 2) 高分子血漿増量剤 3) 造影剤 4) 試薬中の添加物と反応する抗体	<ul style="list-style-type: none"> <li>ウラ検査の予期せぬ凝集 (高 <math>\gamma</math> グロブリン血症時の連鎖形成や薬剤抗体による A<sub>1</sub> や B 赤血球の凝集など)</li> <li>オモテ検査の予期せぬ凝集 (患者赤血球の洗浄が不十分な場合)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>連鎖形成は生理食塩液の添加 (1 滴) で消失する</li> <li>また、薬剤抗体と反応する赤血球試薬中の添加物を除去するためには、生理食塩液で 3 回洗浄した赤血球浮遊液でウラ検査を行う</li> <li>抗体試薬中の添加物 (色素など) と反応する抗体を除去するためには、生理食塩液で 3 回洗浄した患者赤血球浮遊液でオモテ検査を行う</li> </ul>

(2) ABO 亜型検査の進め方

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が弱い(≦3+)、または陰性でオモテ・ウラ不一致、ウラ検査が弱いまたは余分な反応を呈する場合には、その一因として疾患による抗原減弱、血液型キメラ、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、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。下記の表と(別紙) ABO 亜型 鑑別フローチャートにしたがって亜型の鑑別を行うことができる。

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、抗体に対する抗原を有する赤血球が存在している可能性が高い。また、主な亜型の鑑別には抗 A<sub>1</sub> 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。解決できない場合は、専門機関への相談も考慮する。

注：輸血についてはⅢ-2 を参照する。

：試験管法の基準であり、他の検査方法では添付文書に従い再検基準を設ける。

【表 8. オモテ検査(抗 A、抗 B) との反応が弱いまたは部分凝集(mf) が観察される場合】

抗A	抗B	A <sub>1</sub> 赤血球	B赤血球	想定される表現型	鑑別フローチャート
≧ 3 +	0	0	4 +	A <sub>1</sub> (若干A抗原量が低下しているがA型の範疇) A <sub>2</sub>	
≦ 3 + 又はmf	0	0	4 +	A <sub>3</sub> (亜型)、A抗原減弱、A/Oキメラ、 O型異型輸血、造血幹細胞移植の影響	検査フローA
微細な凝集	0	0*	4 +	A <sub>x</sub> (亜型)、A抗原減弱、A/Oキメラ 造血幹細胞移植の影響	検査フローB
0	3 + ≦	4 +	0	B (若干B抗原量が低下しているがB型の範疇)	
0	≦ 3 + 又はmf	4 +	0	B <sub>3</sub> (亜型)、B抗原減弱、B/Oキメラ、 O型異型輸血、造血幹細胞移植の影響	検査フローC
0	微細な凝集	4 +	0*	B <sub>x</sub> (亜型)、B抗原減弱、B/Oキメラ、 造血幹細胞移植の影響	検査フローD
4 +	≦ 3 + 又はmf	0	(+)	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> 又はcisA <sub>2</sub> B <sub>3</sub> (亜型) ※時に不規則性抗B保有、 A/ABキメラ、B抗原のみ減弱 (注：ウラはAB型)	検査フローC
≦ 3 + 又はmf	4 +	(+)	0	A <sub>3</sub> B (亜型) ※時に不規則性抗A1保有 B/ABキメラ、A抗原のみ減弱 (注：ウラはAB型)	検査フローA
≦ 3 + 又はmf	≦ 3 + 又はmf	0	0	A、B抗原減弱 A/Bキメラ、AB/Oキメラ、A/ABキメラ、B/ABキメラ	検査フローA、 検査フローC

・注意 1：(+) は弱陽性反応であり、概ね w + ~ 2 + 程度を想定

\* A<sub>x</sub> または B<sub>x</sub> 場合は、ときに不規則性の抗 A1 または抗 B により弱陽性を示す場合もある

【表 9. オモチ検査は明瞭な反応（A、B、AB）を示し、ウラ検査が弱い又は余分な反応を呈する場合】

抗A	抗B	A <sub>1</sub> 赤血球	B赤血球	想定される表現型	(別紙) 鑑別フローチャート
4+	0	0	0	A型・ウラ（抗B）弱、A型・抗B欠損、 A <sub>1</sub> B <sub>m</sub> （亜型）、造血幹細胞移植後（B←A、AB←A）、 A/B又はA/ABキメラ（B又はABの混合割合が1%以下）	検査フローE
4+	0	0	(+)	A型・ウラ（抗B）弱、 A <sub>1</sub> B <sub>e1</sub> （亜型）※不規則性抗B保有	検査フローE
4+	0	(+)*	4+	A型、不規則抗体保有（低温反応性）	不規則抗体を実施
0	4+	0	0	B型・ウラ（抗A）弱、B型・抗A欠損、 A <sub>m</sub> B（亜型）、造血幹細胞移植後（A←B、AB←B）、 B/A又はB/ABキメラ（A又はABの混合割合が1%以下）	検査フローF
0	4+	(+)	0	B型・ウラ（抗A）弱、 A <sub>e1</sub> B（亜型）※不規則性抗A1保有	検査フローF
0	4+	4+	(+)*	B型、不規則抗体保有（低温反応性）	不規則抗体を実施
4+	4+	(+)*	(+)*	AB型、不規則抗体保有（低温反応性）	不規則抗体を実施

- ・注意 1：(+) は弱陽性反応であり、概ねw+～2+程度を想定
- ・注意 2：\*時に強陽性（3+～4+）の場合もある

【表 10. オモチ検査は明瞭な反応（0型）を示し、ウラ検査は弱い又は余分な反応を呈する場合】

抗A	抗B	A <sub>1</sub> 赤血球	B赤血球	想定される表現型	(別紙) 鑑別フローチャート
0	0	4+	0	0型・ウラ（抗B）弱、0型・抗B欠損、 B <sub>m</sub> （亜型）、造血幹細胞移植後（B←0）、 0/Bキメラ（Bの混合割合が1%以下）	検査フローG
0	0	4+	(+)	0型・ウラ（抗B）弱、 B <sub>e1</sub> （亜型）※不規則性抗B保有	検査フローG
0	0	0	4+	0型・ウラ（抗A）弱、0型・抗A欠損、 A <sub>m</sub> （亜型）、造血幹細胞移植後（A←0）、 0/Aキメラ（Aの混合割合が1%以下）	検査フローH
0	0	(+)	4+	0型・ウラ（抗A）弱、 A <sub>e1</sub> （亜型）※不規則性抗A1保有	検査フローH
0	0	0	0	0型・ウラ（抗A及び抗B）欠損、 造血幹細胞移植後（AB←0）、 0/ABキメラ（ABの混合割合が1%以下）	検査フローG、 検査フローH

- ・注意 1：(+) は弱陽性反応であり、概ねw+～2+程度を想定

## 2. Rh コントロール陽性への対応

【表 11. Rh コントロール陽性への対処法】

判定	結果	対処法・備考
Rh コントロール+	判定保留	<p>1) 寒冷凝集素 (IgM) による非特異的反応</p> <p>(1) 低力価の場合は、非特異的凝集が消失するまで患者赤血球を 37℃ 温生理食塩液で数回洗浄して再検査する。</p> <p>(2) 高力価の場合は、採血直後から検査までの間、検体が 37℃ 以下にならないように保温する。</p> <p>(3) 3~5% 患者赤血球浮遊液は 37℃ 温生理食塩液で調製する。</p> <p>(4) 上記の方法で Rh コントロールが陰性化しない場合は、スルフヒドリル試薬 (dithiothreitol, DTT) を用いて患者赤血球に感作している IgM 型自己抗体を変性/破壊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>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。</p> <p>3) 抗 D による胎児・新生児溶血性疾患 (HDFN) における予期せぬ反応</p> <p>児赤血球のほとんどの D 抗原が母親由来の IgG 型抗 D によって被覆されると、たとえ児が D 陽性であっても RhD 直後判定では偽陰性反応を呈することがある。また、その際 D 陰性確認試験では抗 D 試薬、Rh コントロール共に陽性を呈する。そのため、抗 D による HDFN が疑われる患児の RhD 血液型は、ZZAP やグリシン・塩酸/EDTA またはクロロキン 2 リン酸を用いて IgG 型抗 D を除去した被検赤血球で再検査する。</p>

## 3. 不規則抗体陽性 (不規則抗体同定) への対応

### (1) 抗体同定検査におけるポイントと対処法

【表 12. 抗体同定検査のポイントとその対処法】

抗体同定のポイント	対処法・備考
1. 37℃ 反応性 (IgG) 抗体と低温反応性 (IgM) 抗体の鑑別	<p>1) IgM 型の抗体による反応は、4℃ や 20℃ で増強し、37℃ で減弱または消失する。</p> <p>2) IgM 型の抗体は、10mM DTT (dithiothreitol) で処理すると変性/破壊される。</p>
2. 単一抗体と複数抗体の鑑別	<p>1) 抗体が複数ある場合は、量的効果の反応によらない凝集の強弱を認めることがある。</p> <p>2) Duffy や MNS に対する抗体では、通常、間接抗グロブリン試験 (+) / 酵素法 (-) となる。</p> <p>3) 抗 I、抗 P1 や抗 Lewis などの抗体は、それぞれの可溶性抗原で中和される。</p> <p>4) 吸着または解離試験によって抗体を分離し反応パターンを簡素化すると、同定しやすくなる。</p> <p>5) 否定できない複数の特異性に対し、それぞれの抗原を 1 つだけもつパネル赤血球で検査する。</p> <p>6) 産生しうる同種抗体を推定するためには、ABO、RhD 血液型以外の血液型抗原を検査する。</p>
3. 自己抗体と同種抗体の鑑別	<p>1) 当該抗原が患者赤血球に発現されていなければ同種抗体、発現されていれば自己抗体である。</p> <p>2) パネル赤血球が強弱なく陽性で自己対照が陽性の場合には自己抗体の可能性が高く、自己対照が陰性の場合には同種抗体の可能性が高い。</p>
4. 自己抗体と共存する同種抗体の検出	<p>1) 分子標的治療薬の投薬歴を確認する。</p> <p>2) 患者血漿 (血清) 中の寒冷凝集素除去するため、患者赤血球に被覆している寒冷凝集素 (IgM 型) を温生食で洗浄し除去する。または、10mM DTT を使用し、患者赤血球に被覆している寒冷凝集素 (IgM 型) を変性させる。これらの処理赤血球を用いて 4℃ で吸着する。 注意) 3 か月以内に輸血歴が無いことを確認してから行う。</p> <p>3) 輸血前の患者赤血球に被覆している温式自己抗体を ZZAP やグリシン・塩酸/EDTA またはクロロキン 2 リン酸で処理し、自己抗体を解離した自己赤血球を用いて自己抗体の吸着を行い、吸着上清から同種抗体を同定する。</p> <p>4) 温式自己抗体を除去するためには、3) の患者赤血球や抗原既知同種赤血球を用いて 37℃ で吸着する。</p>

	5) 寒冷凝集素が高力価の場合は、10mMDTT で処理した患者血清（血漿）で不規則抗体スクリーニングをする。
--	---------------------------------------------------------

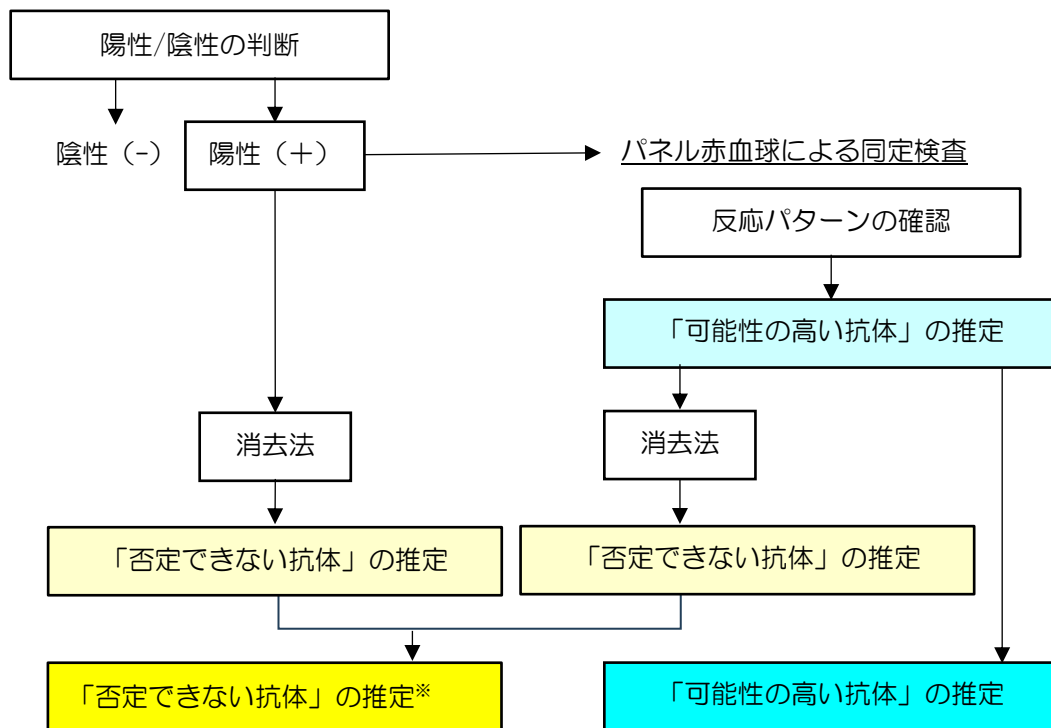
## (2) 抗体同定までの検査手順

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。

- 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。
- 2) 不規則抗体スクリーニングの間接抗グロブリン試験が陽性の場合、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。
- 3) 不規則抗体スクリーニングで陽性となった方法でパネル赤血球による抗体同定を行う。このとき、患者赤血球を用いた自己対照について同時に検査する。
  - パネル赤血球すべてが強弱なく陽性で自己対照が陽性であれば、自己抗体の可能性が推測できる。
  - パネル赤血球すべてが強弱なく陽性で自己対照が陰性であれば、高頻度抗体に対する同種抗体の可能性が推測できる。
- 4) パネル赤血球の反応態度から「可能性の高い抗体」を、次に不規則抗体スクリーニングと同様に間接抗グロブリン試験で消去法を実施し「否定できない抗体」を推定する。
- 5) 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、パネル赤血球から得られた「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。
- 6) 複数の抗体特異性が存在する場合には、追加検査やパネル赤血球を追加し抗体特異性を絞り込む。



不規則抗体スクリーニング(Sc)の判定



※不規則抗体スクリーニングとパネル赤血球による同定検査において、それぞれ推定したものを総合的に判断する。

**患者情報の確認**

- 1) 輸血歴・妊娠歴・抗体保有歴・投薬歴
- 2) 当該抗原の有無（患者赤血球の抗原検査）

**追加パネル**

- 1) 推定される複数の特異性に対し、抗原を1つのみもつパネル赤血球との反応性
- 2) 量的効果が認められる抗原については、ホモ接合体のパネル赤血球を選択

**追加試験**

- 1) 反応条件の変更（検体量、反応温度など）
- 2) 反応性の単純化（酵素法の併用、抗体の中和、吸着解離試験など）
- 3) 酵素または化学処理した赤血球との反応性

**統計学的評価**

- 1) Fisher 確率計算法
- 2) Harris & Hochman 法
- 3) Kanter 法

総合評価

抗体同定

【図 13. スクリーニング陽性から抗体同定までの手順】

注1：可能性の高い抗体とは、同定検査で、i)陽性反応が抗原表のいずれかの抗原パターンと完全に一致する抗体(単一抗体)、ii)異なる検査法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(複数抗体)をいう。

注2：否定できない抗体とは、間接抗グロブリン試験で陰性反応を呈した赤血球において、量的効果を考慮して消去法を行い、抗原表上、消去されずに残ったすべての特異性に対する抗体とする。通常、同定パネル赤血球にDi(a+)抗原は含まれていないため、抗Di<sup>a</sup>の見落としがないよう不規則抗体スクリーニングでDi(a+)赤血球との反応が陽性を呈する場合は、抗Di<sup>a</sup>を‘否定できない抗体’として考慮する。また、当面の輸血ではまれな特異性については考慮しなくてもよい。

### (3) 消去法

消去法とは、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1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。消去法を行った後、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)を表記する。以下にルールにルール(手順)を記す。

- 1) 量的効果のあるホモ接合体の抗原や量的効果を考慮しなくてよい抗原の‘+’には『×』を付記する。
- 2) 量的効果のあるヘテロ接合体の抗原の‘+’には『/』を付記する。
- 3) 最終的に『×』が1つ以上あった抗原についてのみ、その抗体を除外する意味で、抗原表の抗原名に『×』を付記する(無印や『/』のみ付された抗原名はそのままとし、抗体特異性の候補として考慮する)。

注：KとDi<sup>a</sup>の量的効果は明確ではなく、またホモ接合体のパネル赤血球の入手も困難なことから、ヘテロ接合体の赤血球の反応が陰性の場合は、暫定的に抗Di<sup>a</sup>や抗Kを消去してもよい。その際、抗原表に記載してある各抗原の‘+’および抗原名に『×』を付記する。

Cell No.	D	C	E	c	e	K	k	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	M	N	S	s	Pl	Di <sup>a</sup>	Sal	IAT	IgG感作赤血球	
I	×	×	0	0	×	×	×	0	×	0	×	0	×	×	0	+	+	+	0	0	0	0	+	
II	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0	2+	N.T.
III	0	0	0	×	×	0	×	×	0	+	+	×	0	×	×	0	×	0	×	×	0	0	0	+

注：IgG感作赤血球の表記は凝集の強さに関係なく「+」で表記する。IgG感作赤血球を用いる目的は間接抗グロブリン試験が適切に行われたかを確認するためであり、凝集判定に用いる表記法に従う必要がないため。

【図 14. 消去法の実際】

## V. 患者検体

### 1. 採血

- 1) 採血管ラベルは一患者分準備する。  
(ラベル貼り違えを回避するため、複数の患者ラベルを連続して印刷しない)
- 2) EDTA採血管または分離剤無しプレイン採血管を用いる。
- 3) ラベリングされた採血管は、一患者毎にまとめる(他患者用採血管が混入しないこと)。
- 4) 採血時の注意
  - ① リストバンド(ベッドネームなど)と採血管ラベルの患者IDおよび患者氏名の照合を必ず行う。その際、電子的な認証を用いた方法が安全性の向上に繋がる。
  - ② EDTA採血管は、採血後、ゆっくりと4~5回転倒混和する。
  - ③ 採血量は、検査項目・検査方法・交差適合試験の本数などを考慮して決定する。
  - ④ 輸液の混入により、検体の希釈や溶血の原因となる。そのため輸液の混入を避けるため単独ルートから採取する。やむを得ず輸液ラインから採取する場合は、ラインを生理食塩液でリンスし、輸液が混入している可能性のある血液を廃棄してから採血する。

- ⑤ 患者の識別が不明瞭な採血管や、ラベルが二重張りの検体など、不審な点のある検体を検査には使用しない。
- ⑥ 検体量、検体の状態【凝固の有無・血漿（血清）の色調・溶血・ビリルビン・乳び・輸液の混入など】を確認し、必要に応じて再採血または適切な処理を行う。

## 2. 検体

- 1) ABO 血液型の確定には、患者から個々に確認後、異なる時点で別々に得られた患者検体が提出され、少なくとも 2 回の検査が必要である。
- 2) 過去 3 か月以内に輸血や妊娠歴のある患者、あるいはこれらが不明な患者では、輸血日を含む 3 日以内を目安に採取する。
- 3) 輸血による感染事例の遡及調査への備えとして、検査後の患者血漿（血清）は、約 2mL 確保できる量を $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で可能な限り（2 年間を目安に）保管する。
- 4) 3) とは別に、輸血後に発症する可能性のある溶血性輸血反応の原因調査のため、交差適合試験に用いた検体は、輸血施行日から少なくとも 1 週間は $4^{\circ}\text{C}$ に保管する。（一般的には、検体の提出日から 2 週間は $4^{\circ}\text{C}$ に保管する。）その際、血漿（血清）と赤血球に分離して保管するのが望ましい。また、検査後の患者赤血球沈渣や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 週間は $4^{\circ}\text{C}$ で保管する。

## VI. 器材・器具・試薬

### 1. 主な器材類（※は、必要に応じて準備、使用する器材、試薬）

#### (1) 遠心機

- 1) 検体分離用遠心機：血漿（血清）分離
- 2) 凝集判定用遠心機：凝集判定、赤血球洗浄
- 3) 自動血球洗浄遠心機：直接・間接抗グロブリン試験の自動洗浄、凝集判定

- (2) 恒温槽（ $37\sim 60^{\circ}\text{C}$ ）：交差適合試験・不規則抗体検査、熱解離、補体不活化など  
温度は機器に表示されているもの以外に温度計で実温度を確認する。

#### (3) 冷蔵庫・冷凍庫

- 1) 薬用保冷库（ $2\sim 14^{\circ}\text{C}$ ）：試薬の保管や 1～2 週間程度の患者検体（赤血球と血漿/血清）の保管
- 2) 冷凍庫（ $-20^{\circ}\text{C}$ 以下）：凍結が必要な試薬や患者検体（血漿/血清）の長期保管  
《輸血用血液製剤の保管は、自記温度記録計および警報装置付の専用保冷库を用いなければならない。検査試薬と検体は冷蔵保管するが、その際輸血用血液製剤と同一の保冷库に保管してはならない。また、試薬や検体用の保冷库も自記温度記録計および警報装置付が望ましい。》

※ (4) ビューア：凝集判定観察箱（専用のビューアがない場合は明るい光のもとで白色を背景にして判定する）

※ (5) 顕微鏡（ $\times 100\sim \times 200$ ）：凝集と連鎖形成の鑑別など

※ (6) 自動輸血検査装置

### 2. 主な器具類

- (1) 試験管： $\Phi 12\times 75\text{mm}$ （または $\Phi 10\times 75\text{mm}$ ）、ガラス製
- (2) 試験管立て：上記の試験管が立てられるもの
- (3) スポイト：約  $50\mu\text{L}$ /滴、樹脂製またはガラス製（採用前に 1 滴の量を確認する）

(4) 洗浄ビン：500mLの生理食塩液が入る樹脂製のもの

(5) 温度計：恒温槽の実温度測定

(6) タイマー

### 3. 主な試薬類

市販試薬は、使用前に添付文書をよく読み、添付文書に従い使用する。自家調製試薬は、調製日や調製者、使用期限などを明記（記録）し、使用前には精度管理を行う。

#### (1) ABO 血液型

- 1) オモテ検査用試薬：抗 A 試薬、抗 B 試薬
- 2) ウラ検査用試薬：2～5%の A<sub>1</sub> 赤血球、B 赤血球、※O 型赤血球

#### (2) RhD 血液型

- 1) 抗 D 試薬
- 2) Rh コントロール（抗 D 試薬の添付文書に従う）

#### (3) 交差適合試験と不規則抗体検査、直接抗グロブリン試験

- 1) 不規則抗体スクリーニング用赤血球（Di<sup>a</sup>抗原陽性の赤血球含む）
- 2) 不規則抗体同定用パネル赤血球
- 3) 反応増強剤
  - ① ポリエチレングリコール液(PEG)と② 低イオン強度溶液(LISS)のうち、少なくとも1種類
- 4) 酵素溶液：不規則抗体同定用補助試薬として使用
  - ① ブロメリン液、② フィシン液、③ パパイン液のうち、少なくとも1種類
- 5) 抗ヒトグロブリン試薬  
交差適合試験、不規則抗体：① 多特異、② 抗 IgG（PEG-IAT の場合）  
直接抗グロブリン試験：① 多特異、② 抗 IgG、③ 抗補体
- 6) IgG 感作赤血球
- 7) 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)）
- 8) pH8.0 リン酸緩衝生理食塩液(PBS)：分子標的治療薬(抗 CD38)投与患者の不規則抗体スクリーニングまたは同定パネル検査のための 200mM DTT 処理赤血球調製時に使用。

### 4. 機器および試薬の精度管理

機器や試薬の精度管理は、あらかじめ作成した精度管理手順書に沿って定期的を実施し、記録を残す。

#### (1) スポイトの管理

- 1) 1滴が約 50 $\mu$ L の口径のものを選定
- 2) 滴下量を常に一定量になるよう、スポイトを垂直に持ち滴下手技を統一

#### (2) 判定用遠心機の管理

- 1) 回転数 遠心条件：3,000～3,400rpm（900～1,000G）  
光電式回転計（タコメーター）を用い測定するか、自施設での測定が難しい場合はメーカーに依頼し記録
- 2) 回転時間 遠心条件：15秒  
スタートからタイマーが停止するまでの時間をストップウォッチ（タイマー）で計測し、記録

#### (3) 自動血球洗浄遠心機

- 1) 流路系（ノズル、ボトル、ライン）やローター、ディストリビュータの定期的な清掃
  - 2) 生理食塩液の分注量や洗浄後の残量の点検
  - 3) 洗浄遠心機の設定条件（回転数、遠心時間、洗浄回数）の確認
- (4) 恒温槽
- 1) サーモスタットの温度コントロールの動作状態
  - 2) 別の温度計による温度点検と記録
  - 3) 恒温槽の水量、清掃
- (5) 輸血用血液製剤の専用保冷库
- 1) 保冷库の温度は自記温度記録計もしくは温度監視システムで継続的に記録し、管理温度逸脱の有無を確認
  - 2) 停電対策のため非常用電源の接続が望ましい
  - 3) 管理温度逸脱時の警報装置がある場合はアラームテストと警報システムの確認
  - 4) 別の温度計による温度点検（温度計による庫内温度と内蔵温度センサーによる外部表示温度の点検）
  - 5) エアフィルターの定期清掃
- \* 定期点検として 4) と 5) を実施
- (6) 自動輸血検査装置
- 1) メーカーが推奨するメンテナンス計画に従ったデイリー、ウィークリー、マンスリーメンテナンス実施
  - 2) 定期的にメーカーメンテナンス実施
- (7) 検査試薬の管理
- 1) 各試薬の添付文書に記載されている保管条件（室温、冷蔵、冷凍、毒劇物）に従い保管管理する
  - 2) 試薬管理台帳には、試薬納品日、個数、ロット番号、有効期限、受領者サインと試薬開封日、開封者サインの記録を残し、検査結果は使用した試薬と紐づける
  - 3) 自家調製試薬（A<sub>1</sub>および B 赤血球試薬、生理食塩液、リン酸緩衝液、ジチオスレイトール（DTT）、など）を用いる場合には、試薬調製手順書を作成し使用期限を設定
  - 4) カラム凝集法を原理とする検査試薬では、カラム内の気泡（バブル）、飛び散り、乾燥が検査結果に影響するため、装置への装填前に確認
- マイクロプレート法を原理とする検査試薬では、ストリップの吸湿、指示血球の劣化や低温、不適切な洗浄液（酸性）でのストリップ洗浄が検査結果に影響するため、試薬の保管状態、使用期限、洗浄液の pH に注意
- (8) 内部精度管理
- 1) 試薬や機器、測定手順、測定手技の検証のため、陽性コントロールと陰性コントロールを測定し、期待された検査結果が得られることを確認
  - 2) 内部精度管理に使用した試薬のロット番号、有効期限を記録
  - 3) 内部精度管理を実施するタイミングは、検査件数や検査頻度で運用が異なるが、検査開始前、検査パッチごと、試薬ロット変更時、調製試薬交換時、業務終了で実施し、試薬の性能や検査プロセスの有効性を確認

## 輸血検査技術講習委員会

委員長	井手 大輔	近畿大学病院 輸血・細胞治療センター
副委員長	日高 陽子	東邦大学医療センター大森医療センター 輸血部
委員	奥田 誠	東邦大学医療センター大森医療センター 輸血部
	豊崎 誠子	東海大学病院医学部附属病院
	石丸 健	日本赤十字社血液事業本部 技術部
	伊藤 正一	東北ブロック血液センター 品質部検査一課
	森山 昌彦	東京都立墨東病院 検査科
	藤井 明美	県立広島病院 臨床研究検査科
	本田 昌樹	青森市民病院 医療技術局 臨床検査部
	板垣 浩行	東海大学医学部附属病院 臨床検査技術科 輸血室
	福吉 葉子	熊本大学病院 輸血・細胞治療部
	浅野 尚美	岡山大学病院 輸血部
	山田 麻里江	佐賀大学医学部附属病院 検査部
	松浦 秀哲	藤田医科大学 医療科学部/藤田医科大学病院 輸血部
	村井 良精	札幌医科大学附属病院 検査部
	大前 和人	奈良県立医科大学附属病院 輸血部
	大谷 敦子	兵庫県病院局管理課
	天本 貴広	久留米大学医療センター 臨床検査室
	富山 隆介	富山大学附属病院 検査・輸血細胞治療部
	佐藤 郁恵	秋田大学医学部附属病院
	柿沼 幸利	バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)
	斎藤 大輔	QuidelOrtho
	八木 良仁	(株)イムコア
	中島 康裕	(株)カイノス
	山下 省一	富士フイルム和光純薬(株)

(順不同)

## 編集後記

2010年7月10日、日本輸血・細胞治療学会輸血医学教育委員会検査技師教育推進小委員会は安全な輸血に最小限必要な知識と技術を啓発するため、日本臨床衛生検査技師会並びに都道府県同技師会から推薦された50余名の認定輸血検査技師の皆様にご参集いただき、『基礎実技講習の指導者育成講座』を開催した。

それに合わせて刊行された『講習会のための輸血検査手技マニュアル：輸血のための検査マニュアル Ver. 1.1』は、日本輸血・細胞治療学会ホームページに掲載され、同講座の伝達講習会等で活用されている。

2013年には委員会の名称を「輸血検査技術講習委員会」と改め、輸血テクニカルセミナーを開催し、輸血検査手技の統一化の活動を継続している。「輸血のための検査マニュアル」も同委員会が継続して改訂を行い現在に至る。今回の Ver. 1.4 は「赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂4版）」の改訂内容を反映させた。日常検査や講習会の一助となれば幸いである。

『講習会のための輸血検査手技マニュアル：輸血のための検査マニュアル Ver. 1.1』

2010年7月10日

『輸血のための検査マニュアル Ver. 1.2』

2011年6月1日

『輸血のための検査マニュアル Ver. 1.3』

2016年2月12日

『輸血のための検査マニュアル Ver. 1.3.1』

2017年2月13日

『輸血のための検査マニュアル Ver. 1.3.2』

2021年6月16日

『輸血のための検査マニュアル Ver. 1.4』

2024年3月15日

編集・発行 一般社団法人 日本輸血・細胞治療学会  
輸血検査技術講習委員会

### 【マニュアルの利用にあたって】

本マニュアルの無断転載は禁止します。

本マニュアルを研修会などで利用される場合は、学会事務局に連絡をお願いします。

(連絡先) 日本輸血・細胞治療学会 事務局 [info@mail.jstmct.or.jp](mailto:info@mail.jstmct.or.jp)