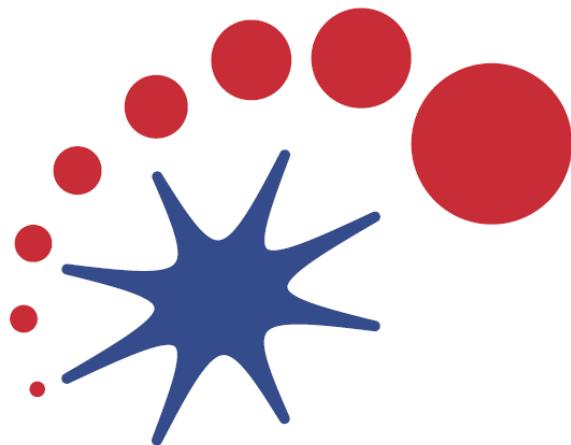


輸血のための検査マニュアル

Ver.1.2



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

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 Rh(D)の血液型、交差適合試験、不規則抗体スクリーニングを主幹とし、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。特に、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、問題解決の手掛けりとなるよう‘異常反応に対する考え方’で簡潔に述べた。さらに、ABO 亜型’、‘不規則抗体陽性’、‘Rh(D)陰性(陰性疑いあるいは weak D’ である患者への輸血については、検査結果の解釈と共に‘輸血用血液の選択’として別記した。

安定した検査結果を得るためにには、「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『新輸血検査の実際』、『赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン』、『輸血療法の実施に関する指針（改定版）』 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。

2010 年 4 月吉日

目 次

	ページ
I. 基本操作 -----	1~2
1. 3~5%赤血球浮遊液の作製法	
2. 試薬・検体の分注	
3. 凝集反応の見方	
II. 検査法 -----	3~10
1. ABO と Rh(D) 血液型	
2. 交差適合試験	
3. 不規則抗体スクリーニング	
III. 輸血用血液の選択 -----	11~12
1. 不規則抗体陽性患者への輸血	
2. Rh(D)陰性(陰性疑い)およびweak D 患者への輸血	
3. ABO 血液型が確定できない患者への輸血	
4. ABO 亜型患者への輸血	
IV. 異常反応に対する考え方 -----	13~16
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 亜型の血清学的鑑別法	
2. 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	
3. Rh コントロール陽性への対応	
V. 患者検体 -----	17
1. 採血	
2. 検体	
VI. 器材と試薬 -----	17~18
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. 3~5%赤血球浮遊液の作製法

- 1) 検体は、多本架遠心機で 1,200G (3,000Orpm) 5 分遠心し、患者名を明記した試験管に血清(血漿)を分取する。
- 2) 患者氏名（または識別番号）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、スポットで赤血球沈渣 1 滴(約 50 μL)を加える。
- 3) 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。
- 4) 判定用遠心機の 900~1,000G(3400Orpm)で 1~2 分遠心する。
- 5) 赤血球沈渣が流れ出ないよう試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる（スポットなどを用いてもよい）。
- 6) 生理食塩液を約 1mL^{*}再添加し、3~5%赤血球浮遊液に調製する。

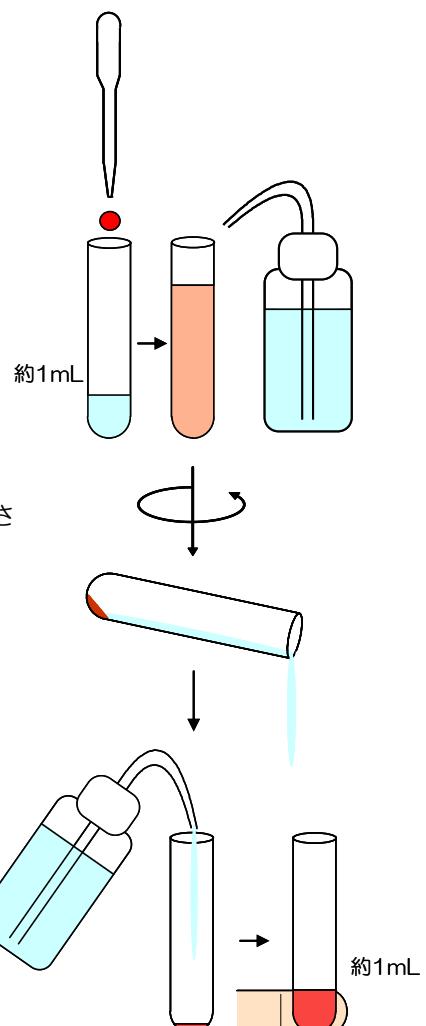
*目安として人差し指一横指 : $\Phi 12 \times 75\text{mm}$ 管底から約 15mm の高さ

注 1：迅速な生理食塩液の分注には洗浄ビンが最も簡便であるが、スポット、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 $\approx 50 \mu\text{L}$ として検査を実施するが、メーカーによってスポット 1 滴の容量にはバラツキがある。そのため、操作角度や滴数は使用するスポットに応じて約 50 μL となるよう、あらかじめ確認しておく。

※一般的に、樹脂製スポッ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。



2. 試薬・検体の分注

1) 検査用試験管の準備

- (1) 検査用試験管には患者名（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スポットでよく混和し、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、分注後にスポッ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

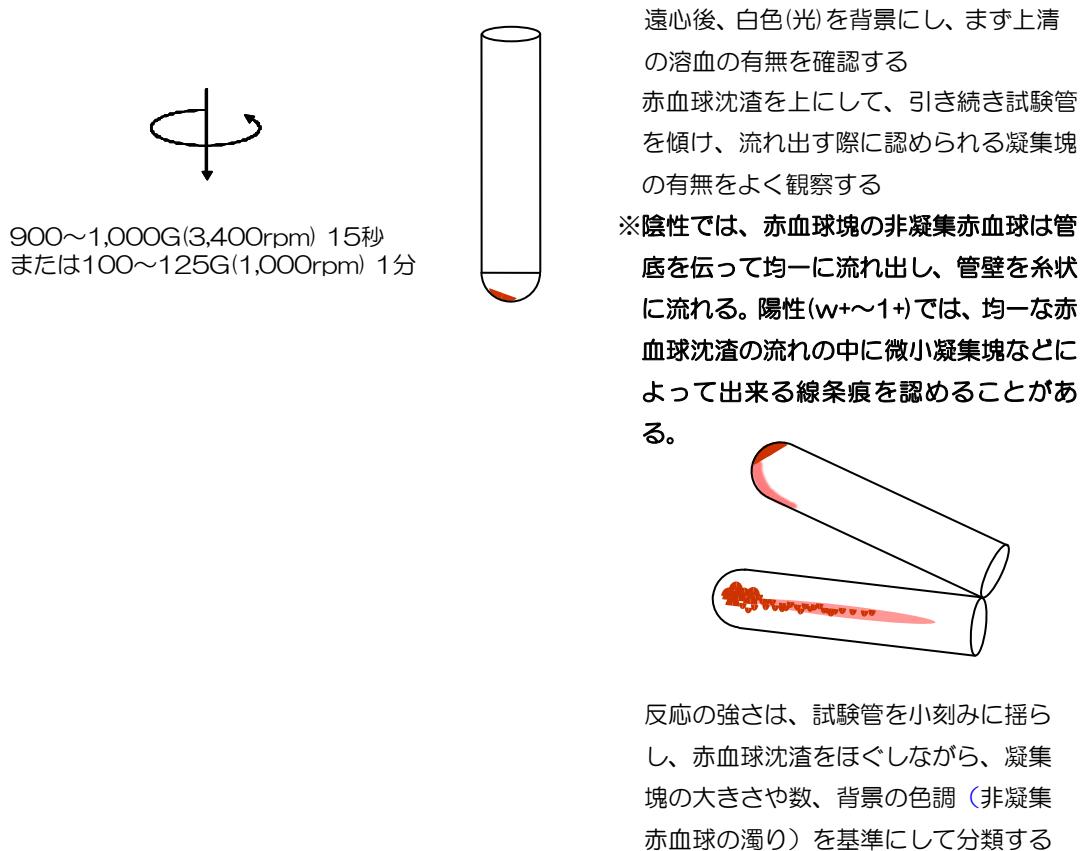
- (1) 分注忘れを目視確認できるよう、被検血清(血漿)や抗体試薬は赤血球試薬や赤血球浮遊液よりも先に添加する。しかし、血清(血漿)や解離液が溶血している場合は、血清(血漿)や解離液を分注する前に赤血球試薬や赤血球浮遊液を添加する。
- (2) 試薬や検体を分注する際は、スポットの先端が試験管に触れないよう注意し、管底へ直接滴下する。
- (3) 試薬と検体の分注状態については、次のステップへ移る前に必ず目視確認する。
- (4) インキュベーション（抗原抗体反応）は、試験管をよく振って試薬と検体を十分に混和してから行う。

3. 凝集の見方

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。

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(3,400rpm) 15 秒または 100~125G(1,000rpm) 1 分 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) 下図のように赤血球沈渣を上にして沈渣を流し、試験管を傾け揺らしながら凝集の有無を観察する。
- (4) 赤血球沈渣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) 赤血球沈渣がほぐれ、均一に再浮遊するまで (3) (4) を繰り返す。



2) 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

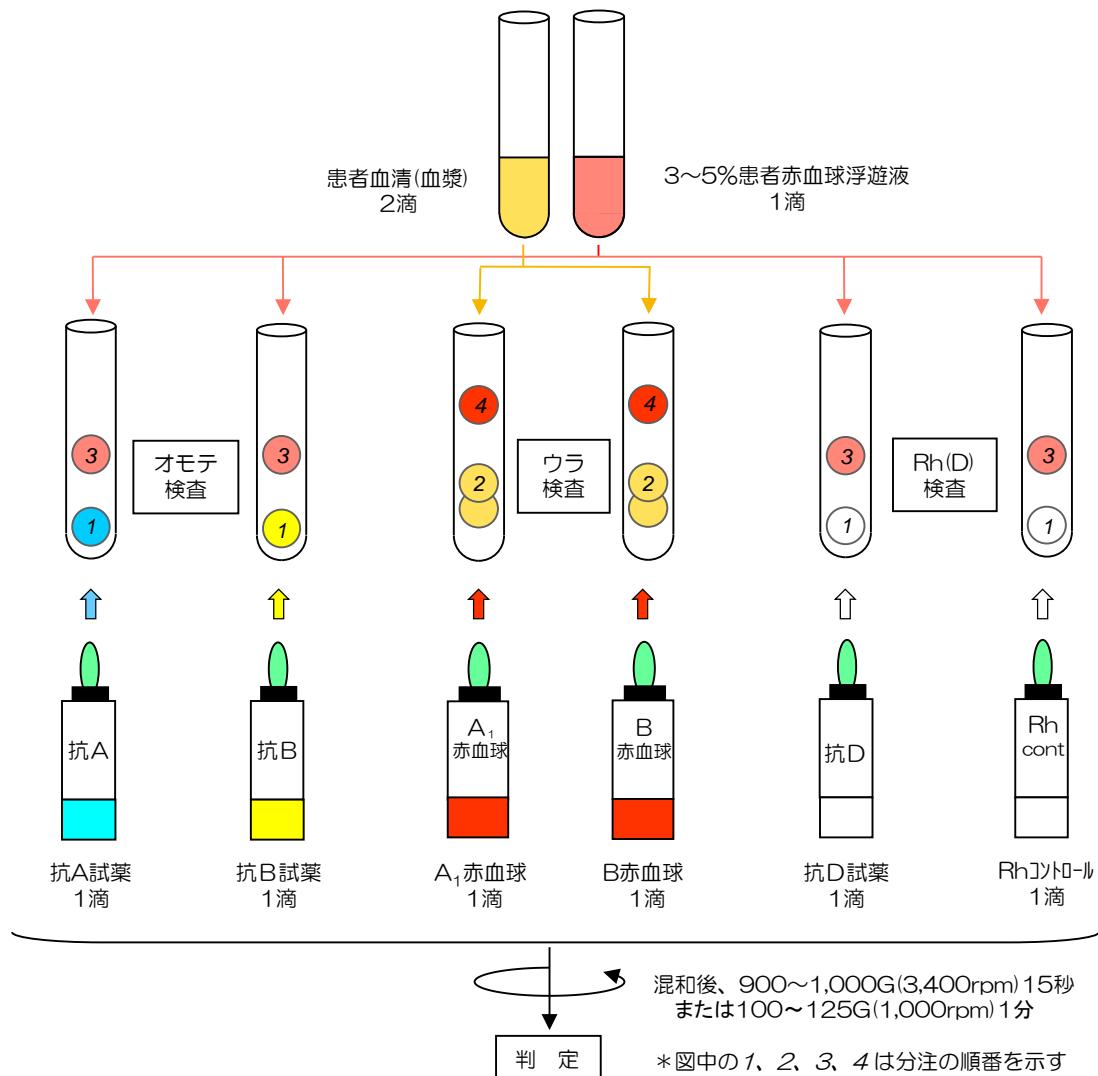
1. ABO と Rh(D) 血液型

1) 操作手順

- (1) 患者検体は 1,200G(3,000rpm) 5 分遠心し、患者名を明記した試験管に血清(血漿)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 3～5% 患者赤血球浮遊液を作製する。
- (5) 抗 A、抗 B、抗 D、Rh コントロール(Rh cont) の試験管に各試薬を 1 滴ずつ滴下する。
- (6) ウラ検査用試験管に血清(血漿)を 2 滴ずつ滴下する。
- (7) 患者血清(血漿)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 Rh(D) 検査用試験管に 3～5% 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 A₁ 赤血球と B 赤血球の各試薬を 1 滴ずつ滴下する。
- (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(3,400rpm) 15 秒または 100～125G(1,000rpm) 1 分遠心する。
- (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 1 : Rh コントロールは抗 D 試薬の添付文書に従う。

【ABO と Rh(D) 血液型検査】



2) ABO 血液型判定

オモテ検査			ウラ検査			総合判定
抗A	抗B	判定	A1赤血球	B赤血球	判定	
+	O	A型	O	+	A型	A型
O	+	B型	+	O	B型	B型
O	O	O型	+	+	O型	O型
+	+	AB型	O	O	AB型	AB型

注1：採血時の取り違い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や抗Lewis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、異型輸血後や造血幹細胞移植後の可能性も考えられるため、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paraBombay(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O型赤血球を用いて検査する。

3) Rh(D) 血液型判定

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
+	O	D陽性		不要	
O	O	判定保留※1	O	O	D陰性
			+	O	weak D
+	+	判定保留※2			

注1：「判定保留※1」を確定するためには、直後判定後、引き続き下記の「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※2とし、その原因を精査する(IV-3、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：IgM単独の抗D試薬はD陰性確認試験に使用できない。

【D陰性確認試験】



抗DとRhコントロールの2本の試験管を37°C 15~60分間加温^{注3、注4}

↓
生理食塩液で3~4回洗浄

抗ヒトグロブリン試薬を2滴ずつ滴下する

900~1,000G(3,400rpm) 15秒
または100~125G(1,000rpm) 1分

↓
判定

陰性の場合は、3~5% 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

2. 交差適合試験

交差適合試験は受血者と供血者間の血液型不適合輸血を防止するために行う。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。より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ことが望ましい。

ただし、日赤血液センターの製剤を用いる場合には副試験は必ずしも行わなくてよい。また、既に ABO 血液型が確定し不規則抗体がない場合には、交差適合試験はコンピュータ・クロスマッチで代用できる。なお、コンピュータ・クロスマッチの詳細は「新輸血検査の実際」（日本臨床衛生検査技師会出版）を参照する。

1) 患者検体の採血

- (1) 検体取り違えによる 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。原則として輸血前 3 日(72 時間)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 日ごとに採血する。

2) 輸血用血液の選択

- (1) 原則として、患者と ABO 血液型が同型の血液製剤を用いる。
- (2) Rh(D)陰性患者には Rh(D)陰性の血液製剤を用いる。
- (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 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、可能な限り対応抗原陰性血を用いる（III-1、参照）。

3) 結果の解釈

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。

しかし、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。

- (1) 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-2-3)を参照。
- (2) 患者または供血者の Rh(D)誤判定や事務的ミス。

4) 胎児・新生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、同型の赤血球濃厚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、赤血球濃厚液を同型から 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、児が母親と異なる血液型であっても母親と適合する組み合わせであれば、母親の検体で代用できる。

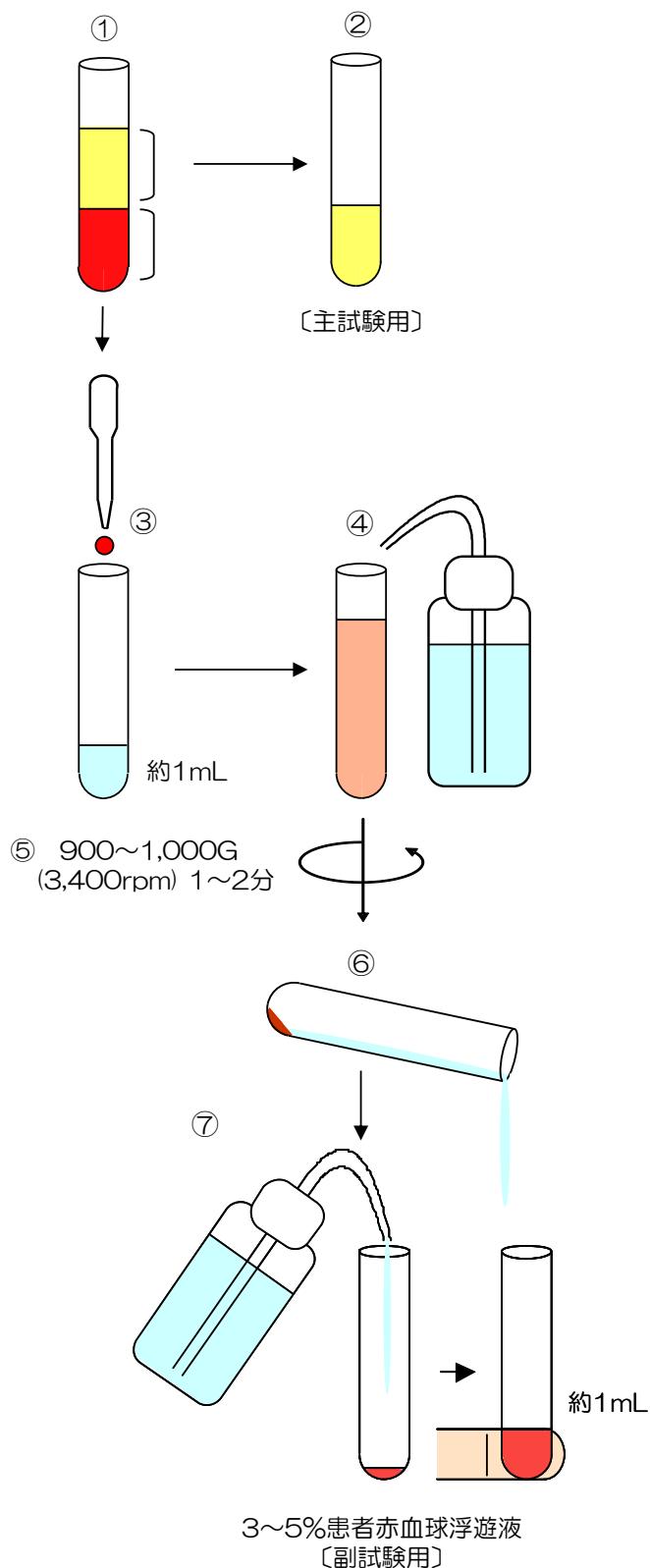
5) 緊急時及び大量輸血の場合

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 同型の赤血球濃厚液を用いることができる（III-3、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出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(平成 21 年改定)」を参照する。

6) 操作法

(1) 患者(被検)検体の前処理

- ① 血清(血漿)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血又は凝固血)を遠心後、上清を分取し主試験に用いる。
- ③ 患者(被検)赤血球の一部を採取し、予め生理食塩液を約1mL入れた試験管に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(3,400rpm)で1~2分遠心する。
- ⑥ 赤血球沈渣が流れ出ないよう試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる(スポットなどを用いてよい)。
- ⑦ 生理食塩液約1mL(一横指)を添加して、3~5%赤血球浮遊液とし、副試験に用いる。

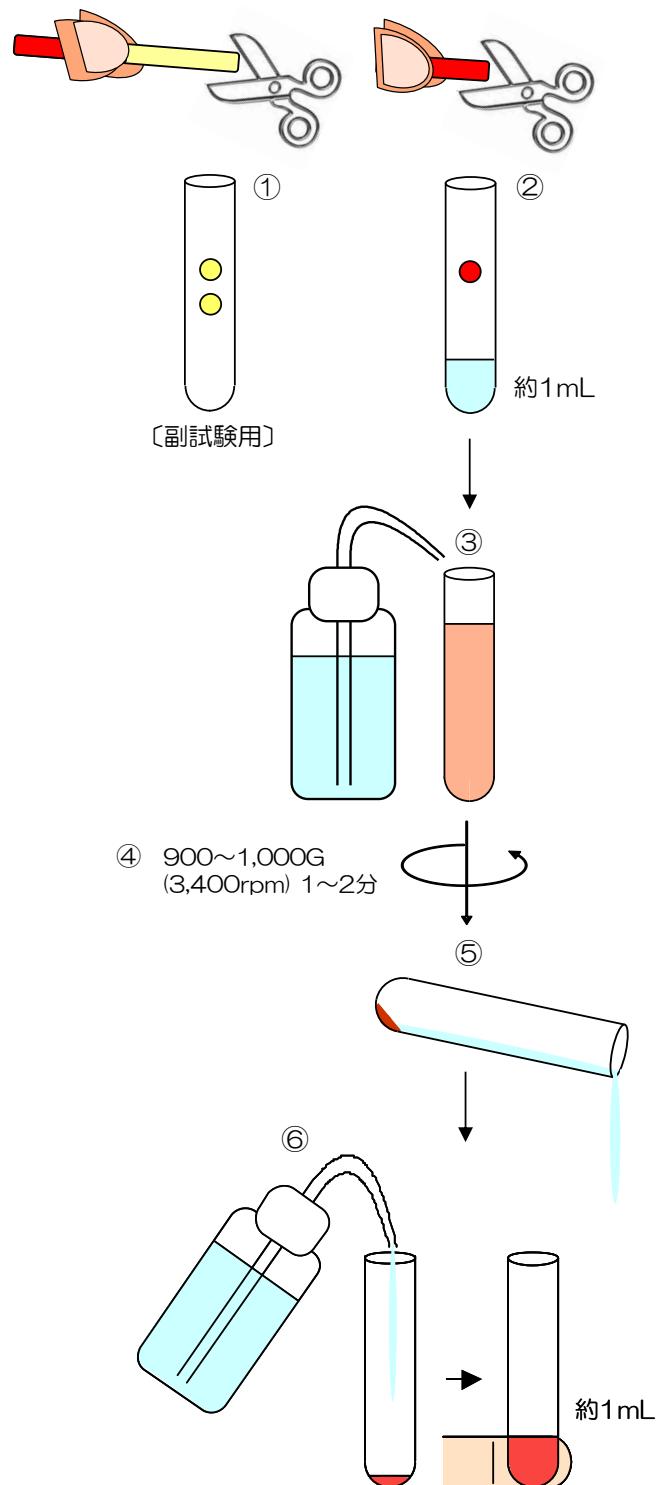


(2) セグメントチューブからの赤血球浮遊液調製法(例)

前処理：血液バック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。

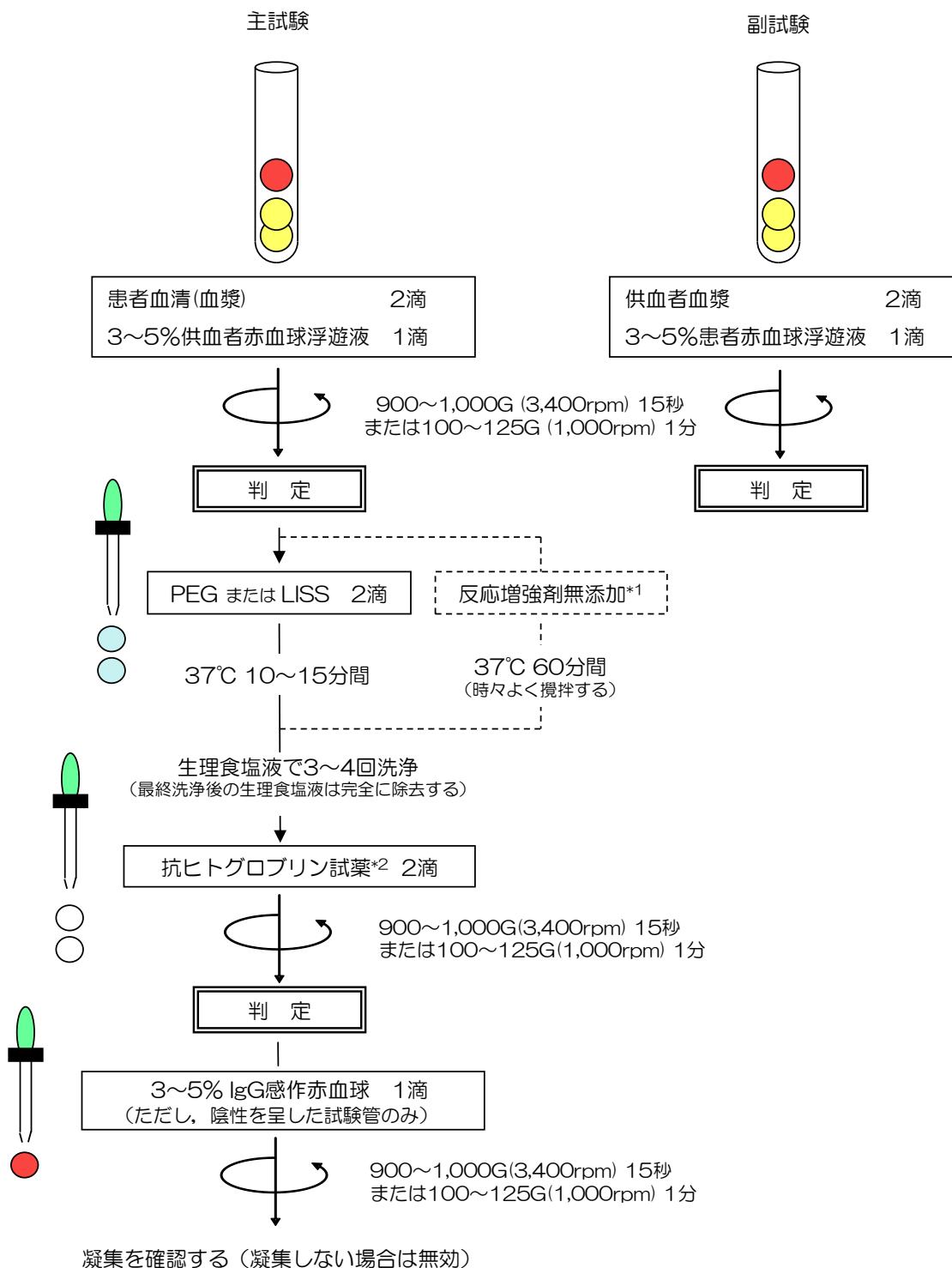
- ① 赤血球製剤本数分の試験管を準備し、製造番号(または識別番号)を明記する。
血漿側のチューブの先端をハサミで切り、親指の爪を立てて赤血球沈渣の流出を止めながら、もう一方の親指と人差し指で血漿側のチューブを押して、副試験用試験管に血漿を2滴滴下する。
- ② 次に、血漿と赤血球沈渣の境界を切断し、予め生理食塩液を約1mL入れた試験管に、赤血球沈渣1滴を押し出す。
- ③ よく混和後、洗浄ビンで生理食塩液を飛び散らないよう勢いよく入れ、試験管の7~8分目まで満たす。
- ④ 900~1,000G (3,400rpm) で1~2分遠心する。
- ⑤ 赤血球沈渣が流れ出ないよう試験管を傾け、素早く生理食塩液を捨てる(スポイトなどを用いてよい)。
- ⑥ 生理食塩液約1mL(一横指)を添加して、3~5%赤血球浮遊液とし、主試験用に用いる。

注：副試験を省略する場合は、②から開始する。



(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。

*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、副作用発生時の調査に備える。

3. 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弱陽性を示した場合、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、抗体を同定し適合血を選択する。抗体同定のための検査のポイントや手順については、IV-2 を参照する。また、血清学的問題解決の詳細、血液型抗体の反応態度や適合率については「新輸血検査の実際」(日本臨床衛生検査技師会出版) 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、患者名を明記した試験管に血清(血漿)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(自己対照は省略可)。
- (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清(血漿)を 2 滴ずつ滴下する。
- (5) 患者血清(血漿)の分注もれを確認する。
- (6) スクリーニング赤血球(Dia^a 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(3,400rpm)15 秒または 100~125G(1,000rpm)1 分遠心する。
- (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(3,400rpm)15 秒または 100~125G(1,000rpm)1 分遠心する。
- (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 3~5% IgG 感作赤血球を 1 滴ずつ加え、よく混和後、900~1,000G(3,400rpm)15 秒または 100~125G(1,000rpm)1 分遠心し、IgG 感作赤血球が凝集することを確認する。

注 1：自己対照は省略できる。ただし、抗体同定の際には陰性対照として必ず実施する。

注 2：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。

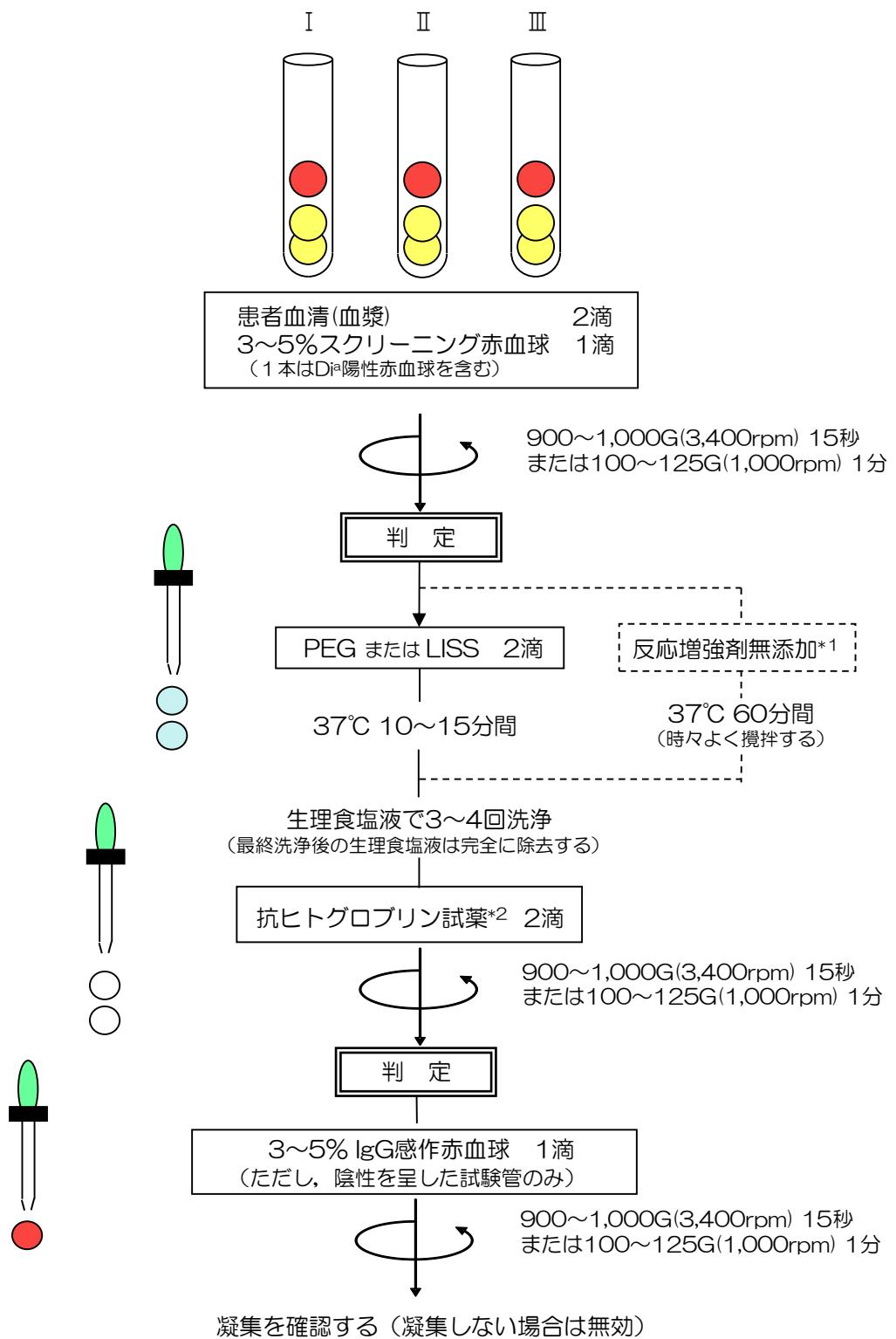
注 3：生理食塩液法で凝集を認めた場合は 37°C で 5~10 分加温し、遠心後、凝集の有無を確かめる。凝集が減弱または消失した場合は低温反応性の抗体を疑う。

注 4：低温反応性の抗体の影響によって、反応増強剤-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-間接抗グロブリン試験で陰性化する抗体はほとんど臨床的意義はない。

注 5：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る。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。

注 6：Bombay(Oh)型や paraBombay(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。

【不規則抗体スクリーニング】



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-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-IAT を試みる。

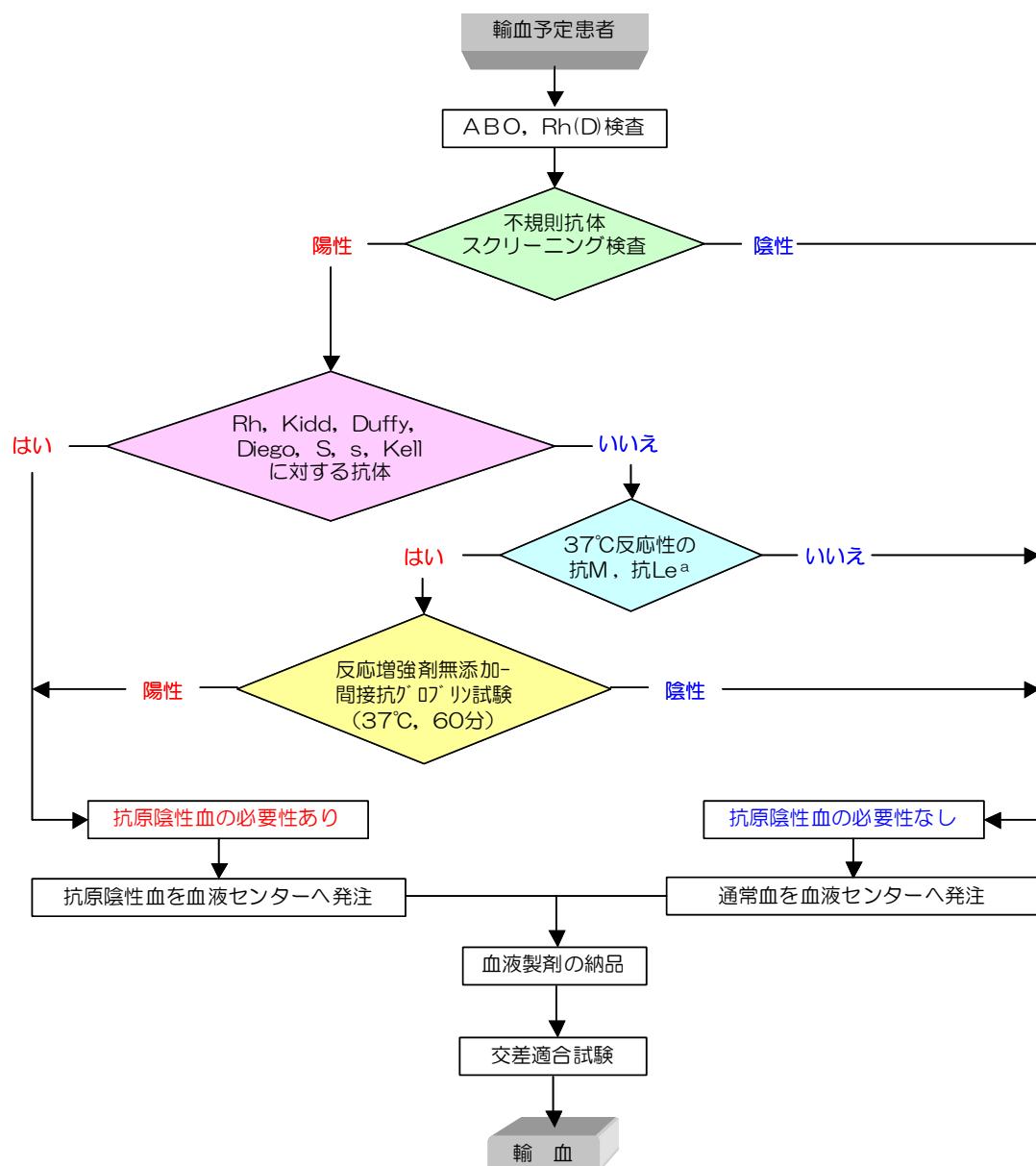
*2 PEG-IAT では抗 IgG 試薬を用いる。

III. 輸血用血液の選択

1. 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、患者血清(血漿)中に臨床的意義のある 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) に対する同種抗体が LISS-間接抗グロブリン試験(IAT)や PEG-IAT で検出された場合(37℃反応性)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 が反応増強剤無添加-IAT 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同種抗体(抗 J^aなど)については、可能な限り対応抗原陰性血の入手に努めるが、時間的余裕がない場合には交差適合試験で陰性または比較的反応の弱い製剤を選択し輸血する。なお、対応抗原陰性血は必要に応じて最寄りの血液センターへ早めに発注する。また、稀な血液を要する場合は速やかに最寄りの血液センターへ相談する。

しかし、37℃反応性の抗 M、抗 Le^a が反応増強剤無添加-IAT で陰性の場合には通常血を選択し、IAT による交差適合試験(主試験)で陰性となった赤血球を輸血する。また、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通常血を選択し輸血する。



2. Rh(D)陰性(陰性疑い)およびweak D 患者への輸血

1) 輸血製剤の選択

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。なお、D陽性患者にはD陰性血も輸血できる。

分類	直後判定	D陰性確認試験	選択すべき血液型
D陽性	+	不要	D陽性(D陰性も可)
D陰性(D陰性疑い)	O	O	D陰性
weak D	O	+	

注：供血者(輸血用血液)がweak Dの場合は、D陽性として取り扱う。

3. ABO 血液型が確定できない患者への輸血

ABO 血液型のオ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。

4. ABO 亜型患者への輸血

1) 輸血製剤の選択

ABO 亜型患者への輸血で問題となるのは37℃反応性の抗A₁、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（解凍赤血球）を選択し輸血する。

分類	オモテ検査		ウラ検査			ウラ検査 (間接抗グロブリン試験)		吸着解離 試験	輸血製剤の血液型	
	抗A	抗B	A1赤血球	B赤血球	O赤血球	A ₁ 赤血球	B赤血球		赤血球	血漿/血小板
A亜型	+	O	+	+	O	+	不要		O	A
	+	O	+	+	O	O	不要		A	A
	O	O	O	+	O	不要	不要	A抗原(+)	A	A
B亜型	O	+	+	+	O	不要	+		O	B
	O	+	+	+	O	不要	O		B	B
	O	O	+	O	O	不要	不要	B抗原(+)	B	B
AB亜型	+	+	+	O	O	+	不要		B	AB
	+	+	+	O	O	O	不要		AB	AB
	+	+	O	+	O	不要	+		A	AB
	+	+	O	+	O	不要	O		AB	AB
	+	+	+	+	O	+	+		O	AB
	O	+	O	O	O	不要	不要	A抗原(+)	AB	AB
	+	O	O	O	O	不要	不要	B抗原(+)	AB	AB

‘+’：通常の抗A、抗Bによる反応 ‘+’：37℃反応性の抗A₁または抗Bによる反応

IV. 異常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。

患者情報	検査への影響（原因）	対処法・備考
1. 血液疾患 1) 白血病 2) MDS 3) Hodgkin病	① オモテ検査の凝集減弱 ② 被凝集価の低下 (糖転移酵素活性の低下など)	① 各種レクチン(抗A ₁ 、抗Hなど)との反応性をみる ② 糖転移酵素活性を測定する ③ 被凝集価を測定する
2. 寒冷凝集素症	① オモテ検査の非特異的凝集 (寒冷凝集素による感作) ② ウラ検査の非特異的凝集 (寒冷凝集素による凝集)	① 検体は37°C以下にならないよう保温して搬送する ② 検体は遠心時も37°C以下にならないよう保温する ③ 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作製する ④ ウラ検査用の血清(血漿)は患者赤血球と4°C 1時間保存し、寒冷凝集素を吸着除去する ⑤ 不規則抗体検査には④の吸着上清 または 2-MEやDTT処理血清を用いる
3. 悪性腫瘍による型物質過剰 1) 卵巣囊腫 2) 胃癌	① 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)	① 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	① 汗血球凝集反応〔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〕 ② 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)	① 潜在抗原や修飾抗原と交差反応しないモノクローナル抗体試薬で、オモテ検査を再検査する (抗体試薬の反応性については添付文書を参照する)
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	① オモテ検査の部分凝集像 (型違い赤血球の混合) ② 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抗体産生能の消失)	① 輸血や移植の有無について確認する ② 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
6. 抗A、抗Bの減弱または欠損 1) 低または無γグロブリン血症 2) 新生児 3) 高齢者	① 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)	① 免疫グロブリン(特にIgM)を確認する
7. 不規則抗体 (低温反応性) 1) 抗M、抗N、抗Le ^a 、抗Le ^b 、抗P ₁ 等	① ウラ検査の予期せぬ凝集 (不規則抗体によるA ₁ やB赤血球の凝集)	① 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) 高分子の血漿增量剤 3) 造影剤 4) 試薬中の添加物と反応する抗体	① ウラ検査の予期せぬ凝集 (高γ-グロブリン血症時の連鎖形成や薬剤抗体によるA ₁ 赤血球やB赤血球の凝集など) ② 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)	① 連鎖形成は生理食塩液の添加(1滴)で消失する 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 ② 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

注：詳細は「新輸血検査の実際」(日本臨床衛生検査技師会出版)を参照。

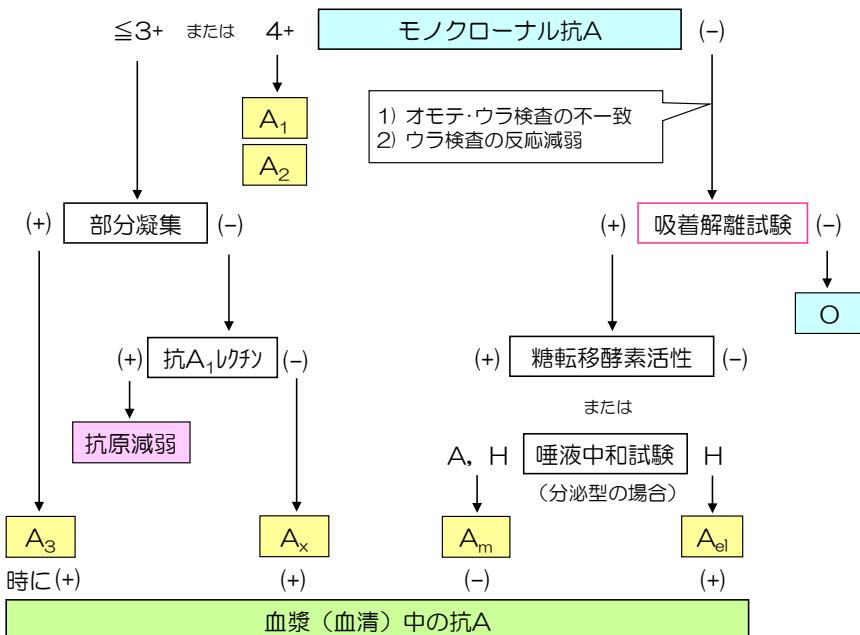
2) ABO 亜型の血清学的鑑別法

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、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。

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。

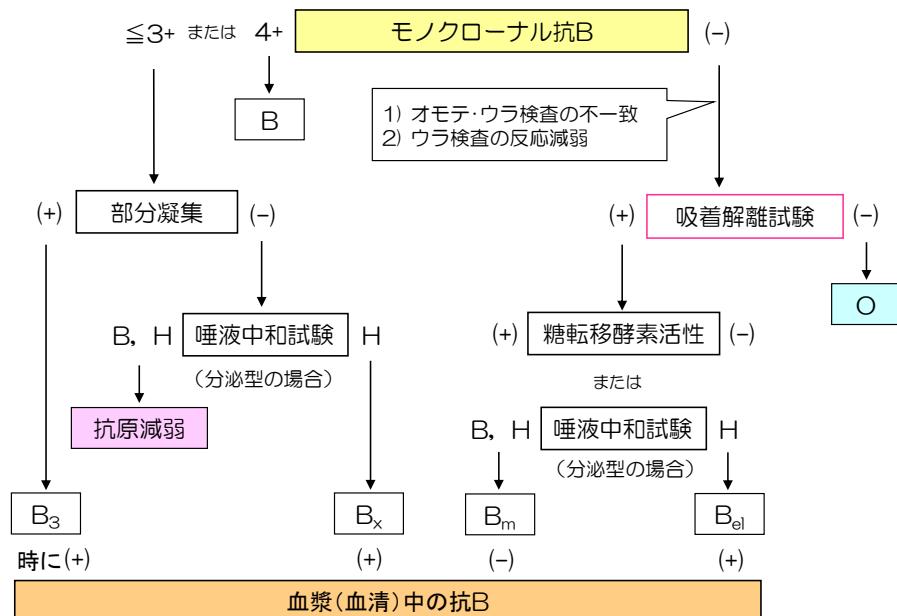
注：詳細は「新輸血検査の実際」（日本臨床衛生検査技師会出版）を、輸血についてはⅢ-4 を参照する。

(1) モノクローナル抗 A 試薬で弱陽性または陰性を呈した場合



(37℃反応性の抗A₁を保有するA亜型患者には、O型赤血球を選択する)

(2) モノクローナル抗 B 試薬で弱陽性または陰性を呈した場合



(37℃反応性の抗Bを保有するB亜型患者には、O型赤血球を選択する)

2. 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

抗体同定のポイント	対処法・備考
1. 37°C反応性(IgG)抗体と低温反応性(IgM)抗体の鑑別	1) IgM性の抗体による反応は、4°Cや20°Cで増強し、37°Cで減弱または消失する 2) IgM性の抗体は、2-ME(mercaptoethanol)やDTT(dithiothreitol)で処理すると変性/破壊される
2. 単一抗体と複数抗体の鑑別	1) 抗体が複数ある場合は、凝集の強弱を認めることがある（量的効果によらない反応の強弱） 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 3) 抗-IgP ₁ や抗Lewisなどの抗体は、それらの可溶性抗原で中和される 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略化すると、同定しやすくなる 5) 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 6) 产生しうる同種抗体を推定するためには、ABO、Rh(D)以外の血液型抗原を検査する
3. 自己抗体と同種抗体の鑑別	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、発現されなければ自己抗体である
4. 自己抗体と共存する同種抗体の検出	1) 患者赤血球に被覆している寒冷凝集素や温式自己抗体を破壊/解離するためには、ZZAPやGlycine/HCl/EDTAで処理する 2) 温式自己抗体を除去するためには、1)の輸血前患者赤血球や抗原既知同種赤血球を用いて37°Cで吸着する。寒冷凝集素を除去するためには1)の輸血前患者赤血球を用いて4°Cで吸着する 3) 寒冷凝集素が高力値の場合は、2-MEやDTTで処理した患者血清(血漿)で抗体スクリーニングする

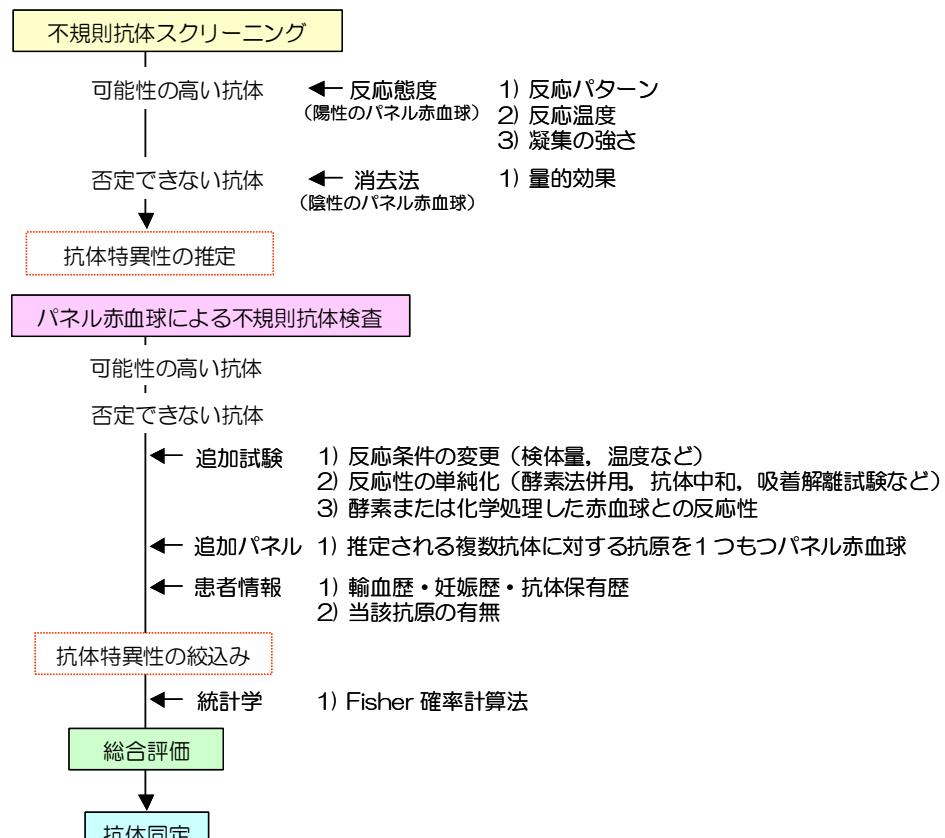
注：詳細は「新輸血検査の実際」(日本臨床衛生検査技師会出版)を参照。

2) 抗体同定までの検査手順

不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。

パネル赤血球による抗体同定においても、不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。「否定できない抗体」(除外できない抗体特異性)については複数の抗体が存在する可能性を疑い、追加試験や追加パネルによる検査を行って抗体を絞り込む。

最終的に、不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。



注 1：可能性の高い抗体とは、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をいう。また、反応強度から 2 つ以上の抗体が推定できる場合も含む。

注 2：否定できない抗体とは、陽性反応が抗原表の特定の抗原パターンに完全に含まれてしまい、反応強度からもその特異性が確認できない抗体をいう。

3) 消去法

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 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。

消去法では、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、以下のルールに従って表記する。

- (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には『×』を付記する。
- (2) 量的効果のあるヘテロ接合体の抗原には『／』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『／』のみの抗原はそのままにし、抗体特異性の候補として考慮する)。

Cell No.	D	C	E	c	e	K	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	Xg ^a	M	N	S	s	P ₁	D ^a	D ^b	生理食塩液法	抗 D リン法	
I	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	0
II	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	2+
III	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0

① 可能性の高い抗体：抗 E、② 否定できない抗体：抗 Jk^a、抗 s

注 1：Di(a+b+) 赤血球や K+k+ 赤血球の反応が陰性の場合は、暫定的に抗 Di^a や抗 K を消去する。

注 2：詳細は「新輸血検査の実際」(日本臨床衛生検査技師会出版) を参照。

3. Rh コントロール陽性への対応

判 定	結 果	対 处 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°C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°C以下にならないように保温する。</p> <p>(3) 3%患者赤血球浮遊液は37°C温生理食塩液で作製する。</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自己抗体を変性/破壊したのち再検査する。</p> <p>2) 溫式自己抗体(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>3) 抗Dによる新生児溶血性疾患(HDFN)における異常反応</p> <p>児赤血球のほとんどのD抗原が母親由来のIgG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Rh(D)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Rh(D)血液型は、クロロキン・2リン酸液を用いてIgG抗Dを除去した被検赤血球で再検査する。</p>

注：詳細は「新輸血検査の実際」(日本臨床衛生検査技師会出版) を参照。

V. 患者検体

1. 採血

- 1) 採血管ラベルは 1 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續して印刷しない)
- 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、1 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。
 - (2) EDTA 採血管は、採血後、ゆっくりと 4~5 回転倒混和する。

2. 検体

- 1) ABO 血液型の確定には、異なる時点に別々に得られた患者検体が少なくとも 2 本必要である。
- 2) 過去 3 ヶ月以内に輸血や妊娠歴のある患者では、予定輸血日の 3 日前を目安に採血する。
- 3) 連日にわたり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。
- 4) 検査後の患者血清(血漿)は輸血副作用等の発生に備え、冷凍保存用サンプルチューブに入れて、-20°C 以下で 3 ヶ月以上可能な限り（2 年間を目安に）保存する。
- 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溶血性輸血副作用発生時の抗原検査に備え、4°C で少なくとも 2 週間程度保存するのが望ましい。

VII. 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) 遠心分離器
 - (1) 多本架遠心機：血清(血漿)分離、赤血球洗浄
 - (2) 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（37~60°C）：交差適合試験・不規則抗体検査、熱解離、補体不活化など
- 3) 冷蔵庫・冷凍庫
 - (1) 冷蔵庫（2~8°C）：試薬の保管や 1~2 週間程度の患者検体(赤血球と血清/血漿)の保管
 - (2) 冷凍庫（-20°C 以下）：凍結が必要な試薬や患者検体(血清/血漿)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庫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庫に保管してはならない。また、試薬や検体用の保冷庫も自記温度記録計および警報装置付が望ましい。》
- ※4) イムノビューア：凝集判定
- ※5) 顕微鏡（×100~×200）：凝集と連鎖形成の鑑別など
- ※6) 拡大鏡（凹面鏡）：凝集判定
- ※7) 自動輸血検査装置

2. 主な器具類

- 1) 試験管：Φ12×75mm（またはΦ10×75mm）、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 μL/滴、樹脂製（採用前に 1 滴の量を確認する）
- 4) 洗浄ピン：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

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：3~5% の A₁ 赤血球、B 赤血球、※O 型赤血球

2) Rh(D) 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

- (1) 不規則抗体スクリーニング用赤血球 (D^a 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
 - ※③ ウシ(重合)アルブミン液
- (4) 酵素溶液：不規則抗体同定用補助試薬として
 - ① プロメリソイン液、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
 - ① 多特異、② 抗 IgG (PEG - IAT 法や直接抗グロブリン試験)、※③ 抗補体
- (6) 3~5% IgG 感作赤血球
- (7) 0.85~0.9% 生理食塩液（または局方生理食塩液）

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に実施し、記録を残す。

1) 判定用遠心機の管理

- (1) 回転数
- (2) タイマー
- (3) 異常音、バランス

2) 自動血球洗浄遠心機

- (1) ノズル、ボトル、ラインなどのメンテナンス
- (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の確認

3) 恒温槽

- (1) サーモスタッフ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

4) 輸血用血液製剤の専用保冷庫

- (1) 自記温度記録計がない場合の温度管理：始業時、終業時の 2 回の温度点検と記録
- (2) 自記温度記録計が付いている場合：保冷庫の表示温度と記録用紙の温度確認
- (3) 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）
- (4) 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
- (5) エアーフィルターの汚れ確認

検査技師教育推進委員会

委員長 星 順隆	東京慈恵会医科大学附属病院 輸血部
委 員 加藤俊明	北海道赤十字血液センター
高梨美乃子	東京都赤十字血液センター
東谷孝徳	久留米大学病院 臨床検査部
小林信昌	東海大学医学部付属病院 臨床検査技術科輸血室
高橋智哉	市立札幌病院 検査部
安田広康	福島県立医科大学附属病院 輸血・移植免疫部
三木茂之	バイオ・ラッド・ラボラトリーズ(株)
古杉光明	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス(株)
田中正史	(株)イムコア

(順不同)

執筆者

責任者 安田広康	福島県立医科大学附属病院 輸血・移植免疫部
東谷孝徳	久留米大学病院 臨床検査部
小林信昌	東海大学医学部付属病院 臨床検査技術科輸血室
高橋智哉	市立札幌病院 検査部

(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。また、検査技師教育推進小委員会は同マニュアル等に関する疑義についてパブリックコメントを求め、多くの会員の皆様から貴重なご意見やご質問をいただいた。

この度刊行した『輸血のための検査マニュアル Ver.1.2』は、皆様からのご要望に基づくVer.1.1の修正版である。変更箇所は『Ver.1.1 の改善点』に記載したので、ご参照いただきたい。また、『輸血のための検査マニュアル』に関するご質問については、『疑義解釈 Q&A』として別途編纂した。『疑義解釈 Q&A』では、本テキストのコンセプトの観点から操作法の意味や結果の解釈に関する疑問点についてわかりやすく解説した。日常検査や講習会の一助となれば幸いである。

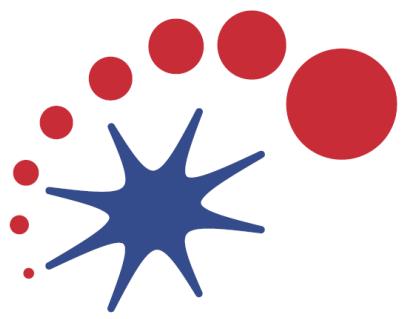
『講習会のための輸血検査手技マニュアル：輸血のための検査マニュアル ver.1.1』

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

編集・発行 一般社団法人 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



輸血検査の標準化で安全性を担保する