

輸血検査

2021年1月27日 香川県臨床検査技師会
輸血研究班と小施設分科会合同研修会
(株)イムコア 学術
八木 良仁

限られた試薬で行う輸血検査のコツ

IMMUCOR

輸血検査

- 基本的に
抗原抗体反応を赤血球凝集で観察
するものである
- 凝集は可逆的な化学反応である
- 赤血球凝集は **抗体の感作** ⇒ **凝集**
のステップで起こる
- 抗体の感作**
赤血球膜上抗原への抗体の付着
凝集
凝集を引き起こす格子を形成するための感作赤血球の架橋形成

IMMUCOR

2

All Content © Immucor, Inc.

血液型抗体がIgMの場合 試験管法

赤血球

患者血清

IgM

IgM抗体は 感作・凝集を起こすことが可能⇒ 完全抗体

容易に凝集反応として観察可能

IMMUCOR

3

All Content © 2015 Immucor, Inc.

血液型抗体がIgGの場合 試験管法

赤血球

IgG

IgG抗体は感作のみで凝集を起こすことが不可能
ケームス血清の助けを借りて凝集を起こす ⇒ 不完全抗体

抗ヒトIgG抗体を加えて

IgGだけでは肉眼的な凝集が見られないので

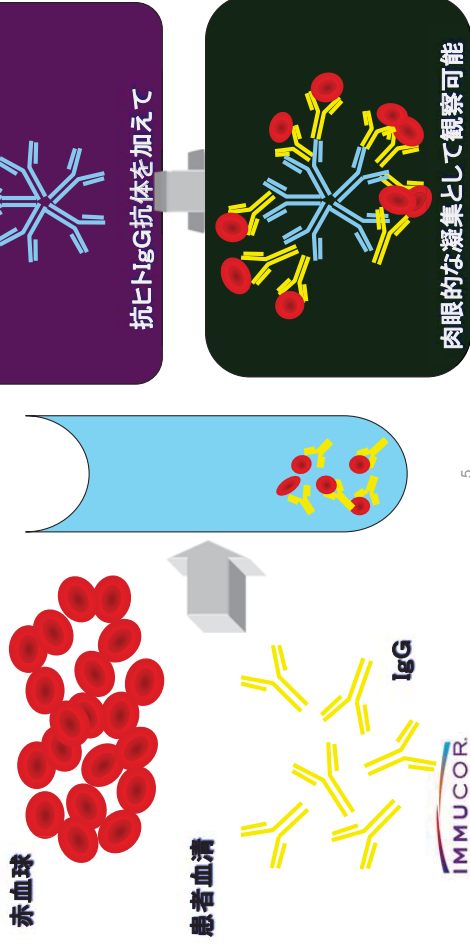
肉眼的な凝集として観察可能

IMMUCOR

4

All Content © Immucor, Inc.

血液型抗体がIgGの場合 試験管法(イムコア)



5

All Content © Immucor, Inc.

6

IMMUCOR

抗体の感作・凝集

- 抗原と抗体は結合する前に、接触し適当な空間的間隔を形成しなければならない。

血漿・血球添加後の攪拌・遠心が必要

- 非共有的化学結合が抗原・抗体間に生じなければならない

結合力は弱く、非常に短い距離においてのみ有効
⇒より距離を近づける必要性

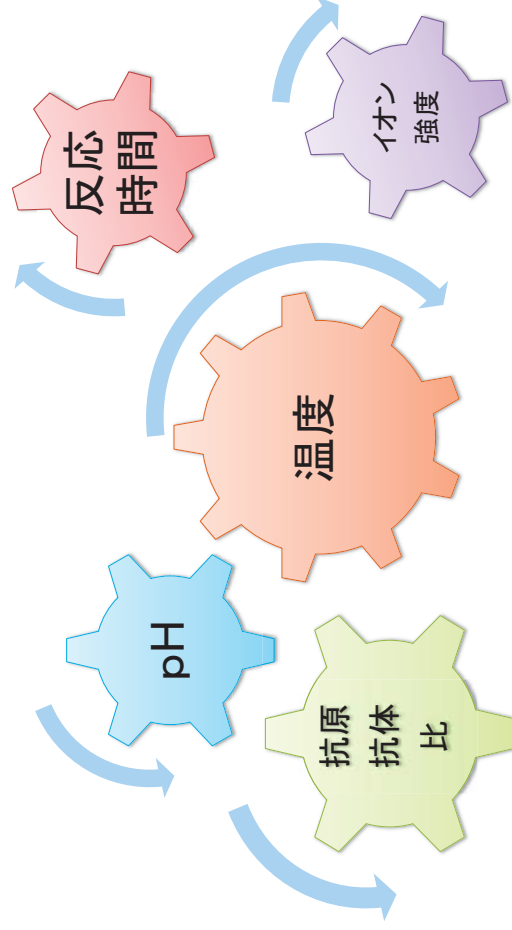
結合は可逆的であり平衡状態になるまで
結合・離合をくりかえす
⇒平衡状態になるまである程度の時間は必要

IMMUCOR

6

All Content © Immucor, Inc.

赤血球凝集に影響を及ぼす因子



7

All Content © Immucor, Inc.

8

IMMUCOR

特別な試薬が無くても因子を調整できるのは

温度

- ・37℃に加温・4℃に冷却

反応時間

- ・直後遠心ではなく 放置時間の延長

抗原抗体比

- ・添加する血漿量の増量 2滴⇒4滴

IMMUCOR

8

All Content © Immucor, Inc.

その他の影響因子に対しては

pH

- 生理食塩液ではなくPBSで対応

イオン強度

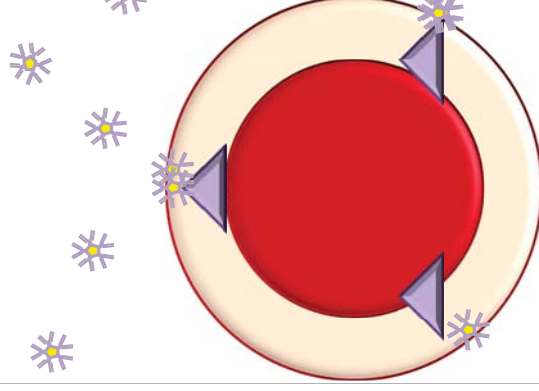
- LISS(低イオン強度液)を添加



9

All Content © Immucor, Inc.

抗体の感作 通常



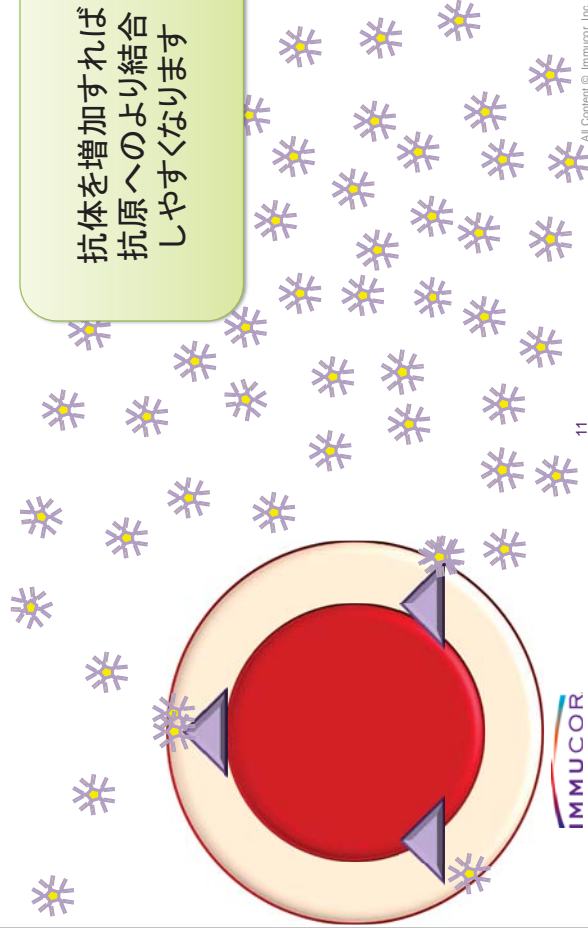
抗体は浮遊しながら
抗原への結合 解離
を繰り返しています



10

All Content © Immucor, Inc.

抗体の感作 抗体を増加



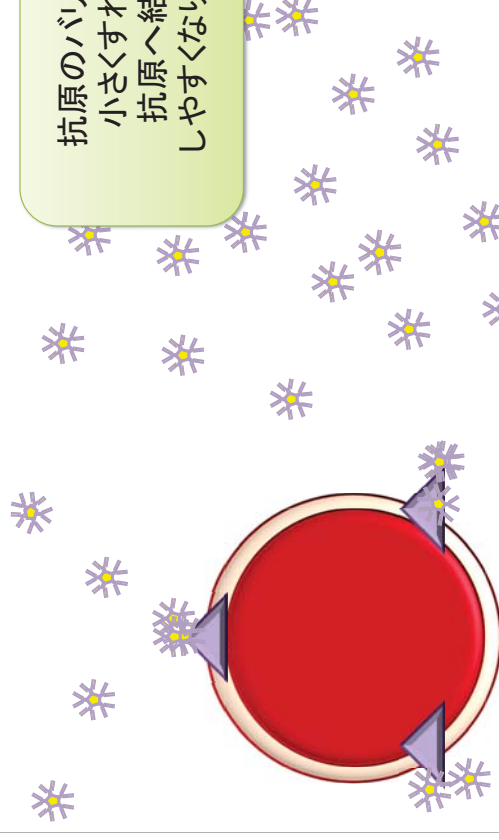
抗体を増加すれば
抗原へのより結合
しやすくなります



11

All Content © Immucor, Inc.

抗体の感作 赤血球膜バリアを低減



抗原のバリアを
小さくすれば
抗原へ結合
しやすくなります

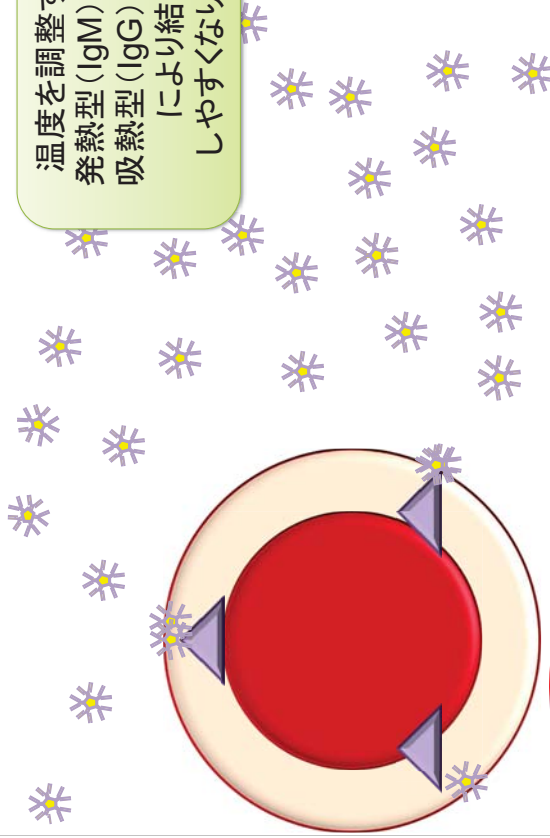


12

All Content © Immucor, Inc.

抗体の感作 温度

温度を調整すれば
発熱型 (IgM) ⇒ 冷却
吸熱型 (IgG) ⇒ 加温
により結合
しやすくなります



13

All Content © Immucor, Inc.

IMMUCOR

予期しない反応の三要因

- 試薬・器具・機器
試薬の劣化 (継続的), プレートやカセットの不良 (偶発的・継続的), 機器の不具合 (偶発的・継続的)
 - 手技
分注, 滴下, 判定.....
 - 検体
年齢, 性別, 疾患, 骨髓・造血幹細胞移植
輸血歴, 投薬歴.....
- 自動化されていれば, ほぼ検体か, 試薬・器具・機器の要因が考えられる。

15

All Content © Immucor, Inc.

IMMUCOR

輸血検査を実施可能な施設で必要な試薬は

- 抗A・抗B・抗D血清 Rhコントロール ウラ検査用赤血球試薬
- 反応増強剤 (PEG・LISS)
- 抗ヒトグロブリン血清 (クームス血清)
- IgG感作赤血球試薬
- 不規則抗体スクリーニング用赤血球試薬
- 酵素試薬 (プロミン・フィジン...)
- 不規則抗体同定用赤血球試薬
- 各種抗血清 (抗C 抗E 抗e...)・レクチン (抗A1...)
- 抗体解離試薬、型物質、吸収試薬
- 転移酵素活性測定試薬

14

All Content © Immucor, Inc.

IMMUCOR

予期しない反応時のチェックポイント

- 特異的 or 非特異的
自己対照での反応の有無
抗原 or 抗体
血球に問題? 血漿・血清に問題?
反応態度
室温相 or 加温相
生理食塩水法 酵素法 クームス法
凝集の強弱の有無

16

All Content © Immucor, Inc.

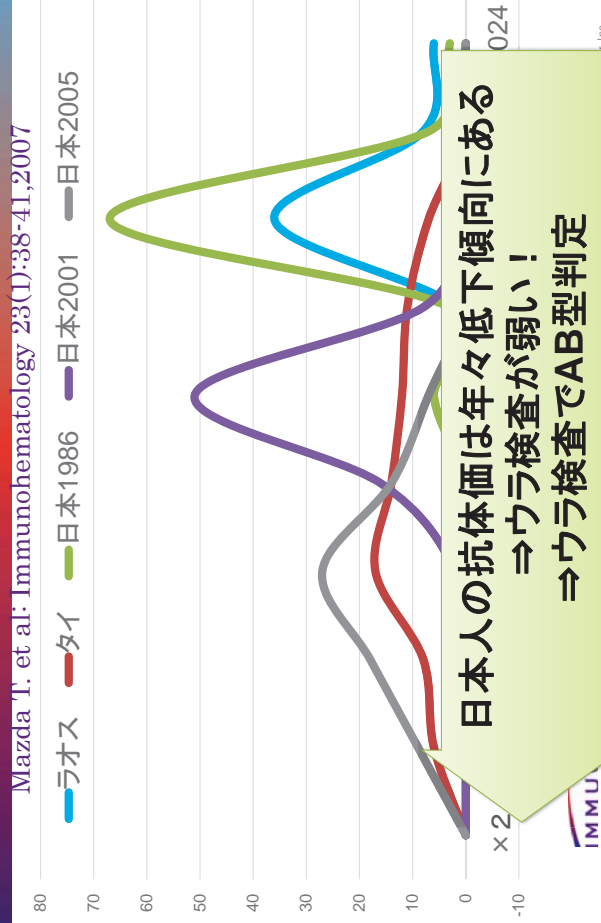
IMMUCOR

ABO血液型オモテ試験

抗A・抗B血清と 患者赤血球浮遊液

- ① 反応強度低下 (ABO抗原の数が少ない)
亜型: **レクチンとの反応** 吸着分離試験
血液疾患・新生児・妊娠: 患者情報収集
- ② 部分凝集 (複数の抗原の血球が混在)
亜型: **レクチンとの反応**
異型輸血・骨髓移植・造血幹細胞移植: 患者情報収集
キメラ・モザイク: 患者情報収集
- ③ (偽) 陽性反応
寒冷凝集反応: 赤血球洗浄
試薬成分に対する抗体: 赤血球洗浄

抗A抗体価 の推移



ABO血液型ウラ試験

A1血球・B血球と 患者血漿

- ① 反応強度低下 (抗A・抗B抗体が少ない)
年齢・輸液・免疫抑制剤: 患者情報収集, 反応増強
(増量・反応時間延長・低温下)
亜型: **A1・B・O型赤血球 A2赤血球**

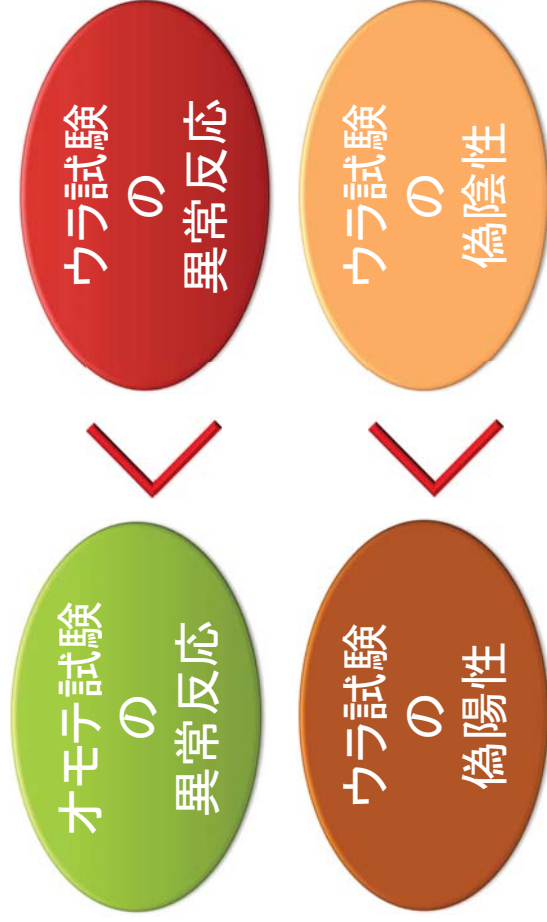
最も多いパターン!

ABO血液型ウラ試験

A1血球・B血球と 患者血漿

- ② (偽) 陽性反応
不規則性抗体 (室温反応性: 抗Le^a, 抗Le^b, 抗M, 抗P1, 抗N)
: スクリーニング, 加温により再判定, 抗原陰性赤血球でウラ検査, 型物質による中和, 酵素処理赤血球で判定
不規則性抗体 (37℃反応性の高力価抗体): 抗原陰性赤血球でウラ検査
不規則性抗体 (亜型の持つ不規則抗A1, 抗B)
: レクチン, A1・B・O型赤血球, A2赤血球
寒冷自己抗体: 自己対照, 寒冷吸収, 加温後再判定
連鎖形成: 患者情報収集 (多発性骨髓腫? TP↑とALB↓)、生食置換
試薬成分に対する抗体: 血液型既知の血漿との反応

実際の頻度



RhD検査

抗D血清・RhHrコントロールと患者赤血球

- ① 反応強度低下
質的・量的異常 (weakD/partialD) : D陰性確認試験
血液疾患・妊娠: **患者情報収集**
自己抗体などによるマスキング: **患者情報収集**
感作抗体の除去, 直接抗グロブリン試験
- ② RhHrコントロール陽性
寒冷凝集反応: **赤血球洗浄**
37°C 反応性抗体の感作: **感作抗体の除去・抗体解離**
③ 部分凝集
異型輸血・骨髄造血幹細胞移植: **患者情報収集**

不規則性抗体/交差適合試験のポイント

患者血漿と複数O型赤血球, 赤血球製剤赤血球との反応 (主試験)

酵素法

試薬 (ブロメリン) を添加 (一段法)

処理 (フイジン・パパン) した赤血球との反応 (二段法)

間接抗グロブリン法

37°C インキュベーション後 生理食塩液で洗浄し
抗ヒトグロブリン抗体試薬を添加し判定
LISS (低イオン強度溶液) や PEG (ポリエチレングリコール) などの反応増強剤 (感度向上目的 + 時間短縮)

不規則性抗体/交差適合試験のポイント

特異性の有無

スクリーニング血球は数種類使用しているので、どれかが陰性か？全て陽性か？
交差適合試験で適合・不適合となる製剤があるか？

陽性反応があるが数種の血球一つでも陰性の反応

→ **不規則性抗体保有の可能性**

複数の血球で反応態度に強弱あり

→ **複数の抗体 or 量的効果の可能性**

全ての血球で同程度の反応

自己対照陽性 → **自己抗体, 試薬成分に対する抗体**
陰性 → **高頻度抗原に対する抗体**
or 複数の抗体

不規則性抗体/交差適合試験のポイント

どの方法で反応が見られているか？

酵素法 間接抗グロブリン法

血液型検査での反応は？

オモテ・ウラ不一致の有無

輸血歴・妊娠歴の有無は？

臨床的意義の低い自然抗体or免疫抗体



All Content © Immucor, Inc.

25

自己対照・DATが陽性となる原因

血漿分画製剤の影響

免疫グロブリン製剤などを大量に使用した場合など、製剤中に含まれる抗A、抗B、抗DなどによりDAT陽性となることがある

→直近の投与歴確認 血漿・解離液特異性あり

分子標的薬剤の影響

多発性骨髄腫の治療に使用されるCD38を標的とするヒトIgG1モノクローナル抗体、daratumumabやisatuximabを使用している患者。CD38は赤血球にも発現されているため 不規則抗体検査ですべての赤血球と陽性となる。

→直近の投与歴確認 血漿・解離液特異性なし

薬剤起因性

抗生物質、抗炎症薬、抗ガン剤などを使用している患者でDAT陽性となることがある。抗薬剤抗体やその免疫複合体により、患者赤血球に感作する。

→薬剤長期投与歴 血漿・解離液は他の赤血球とは反応しない



All Content © Immucor, Inc.

27

自己対照・DATが陽性となる原因

自己抗体が原因の場合（赤血球が自己抗体で感作されている）

自己免疫性溶血性貧血

寒冷凝集素症

→ほぼ全ての赤血球と反応 抗体解離液特異性（無＞有）

同種抗体が原因の場合（免疫抗体が輸血された赤血球・新生児赤血球に感作されている）

遅発性溶血性輸血反応（DHTR）：溶血所見あり

遅発性血清学的輸血反応（DSTR）：溶血所見なし

胎児・新生児溶血性疾患（HDFN）の 胎児・新生児：抗体は母胎由来

Passenger lymphocyte syndrome(PLS)

移植された臓器内のドナー由来リンパ球によって一過性に産生された抗体（抗A、抗B、抗Rh、抗Jkなど）により、自己対照が陽性となり、発症する溶血症候群

→直近の輸血歴・移植歴がない、新生児では除外

抗体は血液型特異性あり 抗体解離液特異性（無＜有）



26

All Content © Immucor, Inc.

不規則抗体スクリーニング血球・同定試薬が無い場合の裏ワザ（自家製スクリーニング血球）

日本赤十字血液センターの抗原検索を利用し、供給されたO型製剤の抗原を検索し、

パイロットチューブの血球で2-5%血球浮遊液を作成し
ておく（RBCストレージソリューション浮遊で60日程度）



注)当然ですが おすすめしません。。



28

All Content © Immucor, Inc.

本邦で検出される 不規則性抗体の頻度

竹下ら, Collaborative study of irregular erythrocyte antibodies in Japan: Result from the Japanese study of allo-immunity and antigen diversity in Asian populations. Transfusion and Apheresis Science, Vol.43, 2010

- ①抗E:26.5% ②抗Le^a:25.7% ③抗P₁:10.6%
④抗M:6.2% ⑤抗E+抗c:4.1% ⑥抗Fy^b:3.7%
⑦抗Di^a:3.3% ⑧抗Le^b:3.0% ⑨抗D:1.6%
⑩抗Jk^a:1.4% 上位10位までで 86.1% を占める

臨床的意義がないとされるものだけで約46%
不規則抗体の検出率が1%程度とすると

200検体当たり1件 程度

寒冷凝集や低温反応性抗体の影響軽減には

- まずは
- 37℃の加温で！ 生理食塩液法判定は省略！
 - 反応増強剤無添加37℃ 60min間接抗グロブリン法
洗浄時の生理食塩液も加温しておくとい
 - 酵素法
 - 抗Lewis・抗P₁・抗Iは増強されるが
抗Mなどは抗原失活により有効

大抵はこの対応で乗り切れる……

それを上回る強い反応態度を示す低温反応性抗体へは
型物質での中和や吸収が必要となる

血球試薬よりも抗血清を用意

- 本邦における不規則抗体は圧倒的にRh系抗体が多い
- Rhのサブタイプ(C・c・E・e)だけでも抗血清により検査可能ならば、かなりの不適合輸血は回避できる可能性
- 血球試薬よりも期限が長く、経済性が高い

⇒弊社では、生理食塩水法で判定可能な
Rh系抗血清がございます。

予期せぬ反応への対応

特別な試薬が無くても……

- まずは再検査
- 患者情報を収集
性別・年齢・輸血歴・妊娠歴・病歴・検査結果……
- 感度を上げて検査
血漿(血清)増量・反応時間延長など・加温・冷却
- 感度を下げて検査
加温・加温生理食塩水で洗浄・反応増強剤無添加でIAT
- 別の方法で検査
スライド法・血液型既知の血漿(血清)・生食置換

かなりの事例が回避できるはずです！

メーカーや血液センターへ相談するより

- 地域の施設間で相談できる検査技師のネットワークを作ってみてはいかがでしょうか？

輸血検査技師ネットワーク連携体制

令和元年度
岐阜県合同輸血療法委員会
活動報告より抜粋

岐阜県合同輸血療法委員会専門部会では、職種別ネットワーク形成の一環として、輸血検査技師ネットワークを継続的に発展させてきました。

このネットワークの主な目的は、県内医療機関における輸血医療の適正化推進のための輸血検査技師の育成と相互連携となります。さらに昨年度より、専門部会で視察実績保有検査技師の中から相談窓口となる担当検査技師を決め、「輸血検査技師ネットワーク連携体制」を新たに構築しました。

院内の適正化推進について相談が必要な場合、それぞれの担当技師までご連絡下さい。担当技師が相談をお受けし、必要に応じて、輸血検査技師ネットワーク、さらには専門部会として個別に内容を検討し、支援させていただきます。

メーカーや血液センターへ相談するより

- 三重県では大学病院が三重県下の施設で判定が困難な事例を技術協力として有償で受託する取り組み

運営方針・運営体制

輸血部と中央検査部が協働し24時間体制で安全で効率的な質の良い輸血医薬をサポートしています。

輸血検査や製剤の供給、大量出血時の止血管理に取り組んでいます。

県内他施設から依頼された不規則抗体や亜型検査など判定の難しい輸血検査を技術協力として有償で受託しています。

輸血は「細胞治療」の一部という観点から、造血幹細胞移植細胞など細胞療法の際の検査や使用する細胞の採取・保存の支援を行っています。

施設概要

輸血・細胞治療部

- 施設概要
- 主な検査・先端検査
- スタッフ紹介

三重大学輸血部HPより抜粋

ご清聴ありがとうございました

