

日常検査の疑問・相談Q&A

～小施設分科会アンケートより～

社医)大樹会 総合病院 回生病院

鬼松幸子

アンケート集計:宇多津病院 藤澤千絵

アンケート集計結果（小施設における課題）

～検査法～

- ①不規則抗体スクリーニング

～輸血用血液製剤の選択～

- ①不規則抗体陽性患者への輸血
- ②自己対照陽性例（直接クームス陽性例）や自己抗体陽性例での製剤選択

～異常反応に対する対応～

- ①Rhコントロール陽性への対応
- ②不規則抗体スクリーニング陽性（同定への対応）
- ③オモテウラ不一致への対応

～技師トレーニング～

- ①凝集の見方
- ②正しい手技の注意点

～運用～

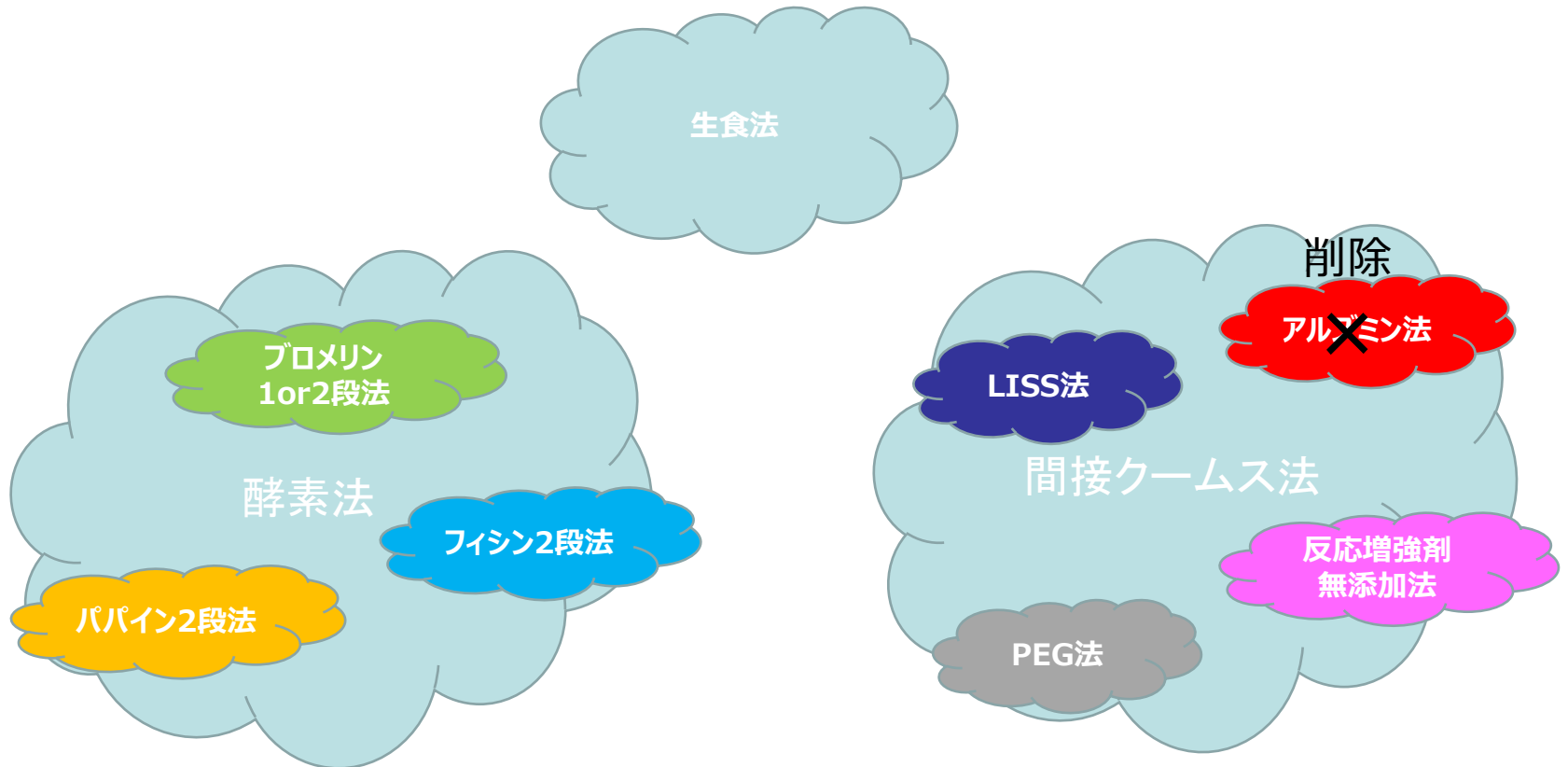
- ①カラム凝集法（用手法）の判定・解釈→高感度ゆえにDATを含め、陽性率が上がる。
- ②不規則抗体スクリーニングの有効期限
（次回輸血まで陰性判定を可とするか、それとも輸血は実施しなかった場合、次の輸血オーダー時には再度抗体検査するか）
- ③主な器材・器具・試薬類
- ④小施設での精度管理、標準作業書、作業日誌の作成

～困った症例～

- ①不規則抗体（陰性）交差適合試験（陽性）

[不規則抗体スクリーニング]の検査方法

いろいろ検査法あるけど、どれがいい??

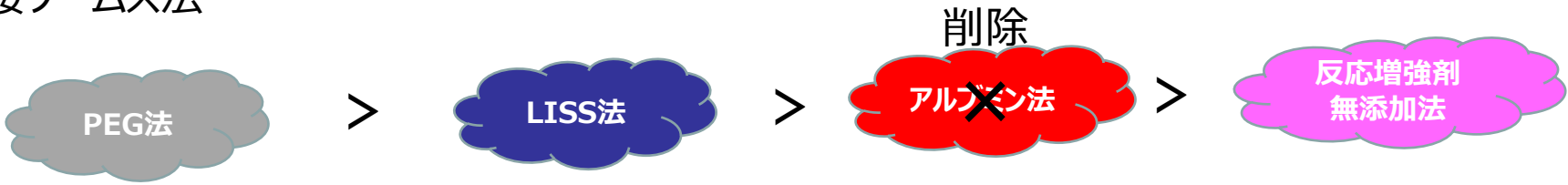


各検査法の感度

酵素法



間接クームス法



感度が良い検査法を実施すればいい??

感度が良い検査法にはリスクもある！

酵素法

欠点

- ・臨床的意義のある不規則抗体のほとんどがIATで検出され、**酵素法のみで検出される抗体は臨床的意義は低い**
- ・**非特異的な凝集**を呈することが多く、不規則スクリーニングに用いると、輸血用血液製剤の選択に時間を要することがある。

利点

- ・産生初期の抗体（IgM）が検出できるので、免疫抗体産生が予測できる
- ・特定の赤血球膜抗原を変性させるため、抗体同定に有用な場合がある



PEG-IAT

欠点

- ・異常γグロブリン血症や高γグロブリン血症の検体は、PEGを加えると白濁沈殿し、洗浄不十分による**偽陰性**になることもある。

注意点

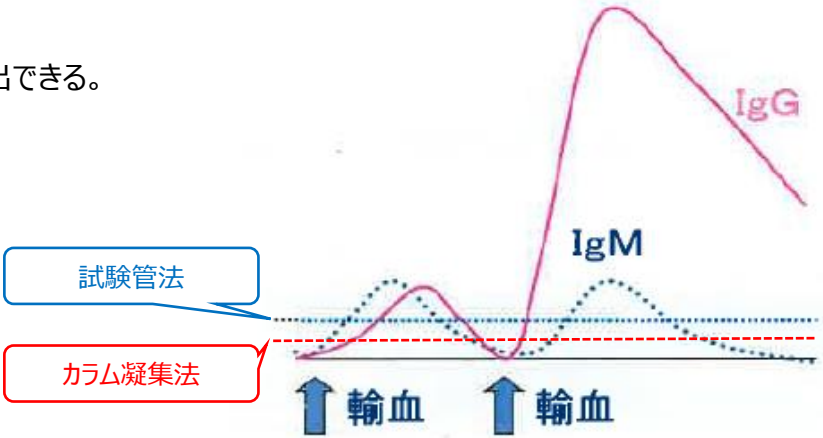
- ・臨床的意義のない冷式抗体に由来する補体成分を原因とした偽陽性を認める場合がある。
抗ヒトグロブリン試薬に抗IgGを用いることで、非特異的に赤血球に付着した補体成分による偽陽性を防げる。
- ・生食洗浄は4回以上行う。

ちなみに・・・カラム凝集法での抗体検出感度高いのはメリット？デメリット？

【メリット】



◇抗体産生早期から検出できる。



【デメリット】



◇健常人や溶血所見のない患者でも直接クームスや自己対照が陽性となることがある。

◇酵素法（二段法）での非特異反応が多い



～赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインより～

5.不規則抗体スクリーニング

5.2 方法

間接抗グロブリン試験は、臨床的に意義のある不規則抗体を検出する上で最も信頼できる方法である。不規則抗体スクリーニングには必須であり、自施設に適した方法を選択して用いることができる。

5.2.1 反応増強剤としてポリエチレングリコール液（PEG）を試験管法に、また低イオン強度溶液（LISS）を試験管法、カラム凝集法、固相マイクロプレート法に用いることで、反応時間を10～15分に短縮し、検出感度を上げることができる。

5.2.2 不規則抗体スクリーニングにおいては、間接抗グロブリン試験を単独で用いることができる。ただし以下の条件を考慮に入れる。

- （1）検査実施者について、間接抗グロブリン試験の技能（習熟度）を評価する。
- （2）IgG感作赤血球を用い、抗グロブリン試薬の反応性ととも、赤血球の洗浄効果を必ず確認する。
- （3）定められた手順に従った時、既知の臨床的意義のある抗体が検出されることを定期的に確認する。
- （4）上記5.2.1の高感度な方法（反応増強剤を加えた試験管法、カラム凝集法、固相マイクロプレート法など）を用いて間接抗グロブリン試験を実施する。

5.3 その他の方法

酵素法、アルブミン法、生理食塩液法は不規則抗体を同定する際に有効な場合がある。しかし、非特異反応や臨床的意義のある一部の抗体を検出できないため、不規則抗体スクリーニングで実施する意義は低い。なお、不規則抗体スクリーニングにおいて、これらの方法を単独で用いてはならない。

不規則抗体検査法の選択

必須

PEGまたはLISSを使った
間接クームス試験

+α

Point !

- ①試験管法で実施する場合には、IgG感作赤血球による最終確認、精度管理、技師の習熟度確認（結果信頼性の確認）は必須！
- ②酵素法、生食法などは +α として考える。
+α を追加することが、抗体特性の把握（複数抗体の識別）と初期抗体の検出に有効。
- ③ヘテロ接合体赤血球を用いたPEG-IATは、ホモ接合体赤血球を用いたLISS-IATと同程度の反応性とも
言われる。輸血の安全性を高めるため、交差適合試験で用いる反応増強剤はLISSよりPEGが有用。

+α

活用例 ～生食法編～

【PEG (LISS) -IATで陽性、抗Mが検出された場合】

低温反応性でも力価が高ければ
反応増強IATで陽性になるよね

IATで検出されるってことは
臨床的意義のある
(37℃反応性) 抗M？

抗Mは臨床的意義ある？ 適合血の選択は必要？



そんな時こそ生食法を追加しましょう！！

- ① 生食法で低温反応性抗体と判明したら反応増強剤無添加IATを試みる
- ② Sal-IATで反応がない＝臨床的意義がないと判断できる（適合血の選択は不要）

不規則抗体【陽性】患者の血液製剤選択

～赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインより～

6.11.酵素法や生理食塩液法で検出された不規則抗体は、上記5.2.1の**高感度な間接抗グロブリン試験**で検出されず、かつ3カ月以内に**輸血歴や妊娠歴がなければ、原則として抗原陰性血の適応とはならない。**

6.12.不規則抗体の血液型特異性と輸血用血液製剤の選択

臨床的意義のある不規則抗体を有する患者、過去に臨床的意義のある不規則抗体の保有歴がある患者には、抗原陰性血を選択し輸血する。なお、抗体産生防止等を目的とした抗原陰性血の使用は、下記7.2.1.（AIHA）の対応例を除き、輸血用血液製剤の有効利用を妨げることから原則として控えるべきである。

抗体の特異性	臨床的意義	輸血用血液製剤 （赤血球製剤）の選択
Rh	あり	抗原陰性
Duffy	あり	抗原陰性
Kidd	あり	抗原陰性
Diego	あり	抗原陰性
S, s	あり	抗原陰性
Kell	あり	抗原陰性
M（間接抗グロブリン試験*陽性）	あり	抗原陰性
M（間接抗グロブリン試験*陰性）	なし	選択の必要なし
Le ^a （間接抗グロブリン試験*陽性）	あり	抗原陰性
Le ^a （間接抗グロブリン試験*陰性）	なし	選択の必要なし
Pl, N, Le ^b	なし	選択の必要なし
Xg ^a	なし	選択の必要なし
高頻度抗原に対する抗体		
JMH, Knops, Cost, Chido/Rodgers	なし	選択の必要なし
Jr ^a	あり	抗原陰性が望ましい
その他高頻度または低頻度抗原 に対する抗体	特異性、症例により異なる	輸血認定医、輸血認定 技師または専門機関に 相談

反応増強剤無添加-間接抗グロブリン試験（37℃, 60分）

不規則抗体が検出された！輸血まで時間がある・・・医師への報告はどうする？

- ①不規則抗体を保有していること
- ②不規則抗体の臨床的意義の有無について
- ③適合血選択の必要性について
- ④貯血式自己血輸血の選択肢
- ⑤輸血の準備には通常より時間を要すること



不規則抗体が検出された！緊急で輸血！どうする？

～輸血療法の実施に関する指針～

緊急に大量輸血を必要とする患者で、事前に臨床的に意義のある不規則抗体が検出された場合であっても、対応する抗原陰性の血液が間に合わない場合には、**ABO同型血を輸血し、救命後に溶血性副作用に注意しながら患者の観察を続ける。**

～危機的出血への対応ガイドライン～

不規則抗体陽性の場合でも、交差適合試験を行わず、**ABO型適合を優先**する。

危機的出血が発生した場合

どれだけ早く輸血開始できるかが救命率に大きく影響します！ 60分以内に輸血開始できれば救命率43%、60分以上経過すると16%にまで下がるという報告※) もあります。

リスクを上回る効果が期待できるようなら、躊躇なく迅速に輸血開始しましょう！

やむを得ず、対応抗原陽性血液を輸血した後の対応は・・・？

～輸血部門（検査部門）から臨床部門への発信すべき情報～

①同定された抗体から予測される溶血の程度

※Rh,Duffy,Kidd,Diago,S, s 抗体 = 重篤な溶血性副作用を起こす可能性あり

②輸血された対応抗原陽性血の単位数

③FFP輸血の回避（補体が補充され溶血憎悪の可能性）

～臨床部門にお願いすべき患者観察POINT～

①溶血所見の出現

②循環系、腎機能のモニタリング

さて！よくありそうなこんなケースの場合どうする？

「不規則抗体スクリーニングで陽性

・・・院内で同定検査を行っていない・・・同定結果が出るには1週間後

・・・でも1週間も輸血が待てない・・・どうする？？」

◆患者に輸血歴・妊娠歴はある？

輸血歴、妊娠歴がなければ免疫抗体の可能性は低いかも・・・自然抗体ならリスクは低いかな・・・

◆陽性に出たのは何法？

PEGまたはLISS-IATで検出されたのなら臨床的意義のある抗体の可能性が高いかな・・・

酵素法や生食法のみで検出されたのであれば、臨床的意義の低い抗体の可能性が高いかな・・・

◆追加検査はした？

LOTの異なるパネル血球（期限切れでもOK）で追加してみる

酵素法や生食法を追加で実施して、抗体特性から疑わしい抗体を絞る

最終的には医師と相談しましょう！

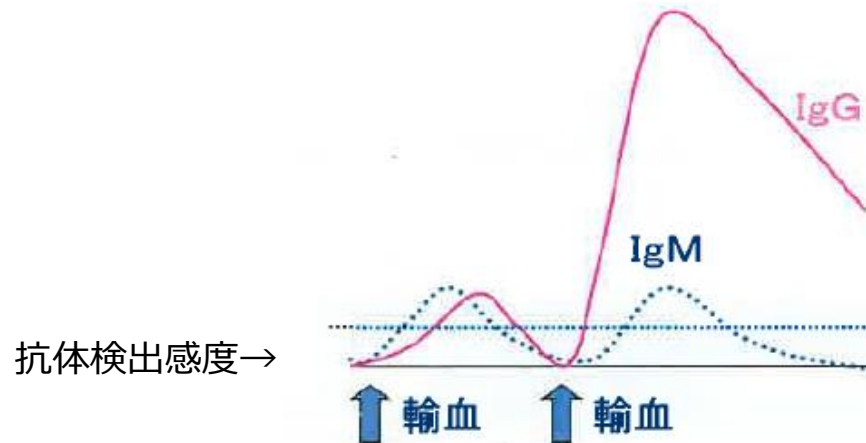
報告例＞

患者は不規則抗体を保有しています。抗体同定には1週間かかりますが、院内の検査結果から患者は、溶血性副作用を発症する抗体を保有している可能性が高いです。同定結果がでるまで輸血が待てないようでしたら検査体制の整った医療機関への転院するか、当院で治療するのであれば、ABO同型の製剤を準備しますが、輸血は最低限にとどめて頂き、輸血後は副作用の発症に注意する必要があります。

不規則抗体スクリーニングの有効期限

不規則抗体は免疫刺激後、どれくらいして産生されるの??

- ◆一次免疫反応・・・産生期間：1週間～数ヶ月
- ◆二次免疫反応・・・産生期間：1日～20日（24時間以内の報告もある）



安全な輸血のための不規則抗体検査実施～理想と現実～

<理想>



抗体はいつ産生されるかわからない！

特に頻回輸血患者は、輸血当日に毎回検査したい！

<現実>



◆コスト面

- ・診療報酬上、不規則抗体検査の費用として検査回数にかかわらず1月につき197点しか加算できない。頻回に輸血を行う場合にあっては、1週間に1回限り、197点加算できる。

※頻回輸血とは・・・「週1回以上、当該月で3週以上にわたり行われるもの」

◆患者への負担

- ・輸血当日の検査だと輸血が遅れる。最悪、抗体保有していた場合には当日輸血できなくなる
- ・検査採血回数が増加する



参考情報

コンピュータクロスマッチでの不規則抗体スクリーニングに用いる検体に設定

- ◆過去3カ月以内に輸血歴または妊娠歴あり：輸血予定日に先立つ3日以内
- ◆過去3カ月以内に輸血歴または妊娠歴なし：輸血予定日に先立つ1週間以内

※コンピュータクロスマッチ；あらかじめABO、RhD血液型検査と不規則抗体スクリーニングを実施し、臨床的に問題となる不規則抗体が検出されない場合は、コンピュータを用いて患者と輸血用血液製剤のABO、RhD血液型の適合性を確認する

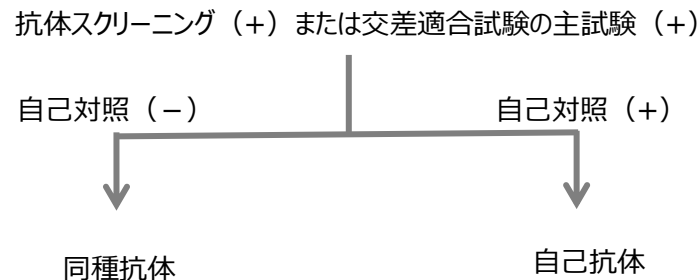
自己対照【陽性】患者の血液製剤選択

不規則抗体（同定）検査における自己対照の必要性

自己抗体と高頻度抗原に対する抗体との鑑別に有用

- ◆自己対照をおかずに不規則抗体スクリーニングを行い、抗体スクリーニング陽性となり、パネル血球を用いて抗体同定を行う場合は、自己対照をおく必要がある。自己対照をおくことによって、血漿（血清）中の抗体が自己抗体か同種抗体か鑑別可能となる。

スクリーニング血球に全て陽性を示す場合、高頻度抗原に対する抗体か、型特異性のない自己抗体か鑑別するために自己対照の反応性は重要



(※3カ月以内に同種免疫感作（輸血歴、妊娠歴、移植歴）がないことが必要条件)

交差適合試験における自己対照の必要性

2回目以降の輸血において、遅発性溶血性輸血副作用(DHTR)の早期発見に有用

交差適合試験において、量的効果のある血液型抗原に対する抗体は、抗原がヘテロ接合体の場合、検出されにくい。



主試験（－）自己対照（＋）の結果からDHTRに気づき、その後の不適合輸血による憎悪を回避できる

自己対照 Q&A

Q.酵素法において自己対照は必要？

A. 自己対照により酵素非特異反応を判別できるメリットがある。

Q. 自己対照はいつ必要？

A. 自己対照は不規則抗体同定時でよい。同定を行っていない施設ではスクリーニング時に実施、不規則抗体検査を実施しない場合は交差適合試験時に自己対照を実施することが望ましい。

Q.間接抗グロブリン試験で自己対照【陽性】＝直接クームス【陽性】と解釈していい？

A. 間接抗グロブリン試験の自己対照が陽性であっても、必ずしも直接クームス試験が陽性とは限らない。

反応増強剤中の成分に対する抗体や、反応増強剤依存性の自己抗体が影響している可能性もあるので、直接抗グロブリン試験（広範囲 or IgG試薬）を実施する。

自己抗体【陽性】患者の血液製剤選択

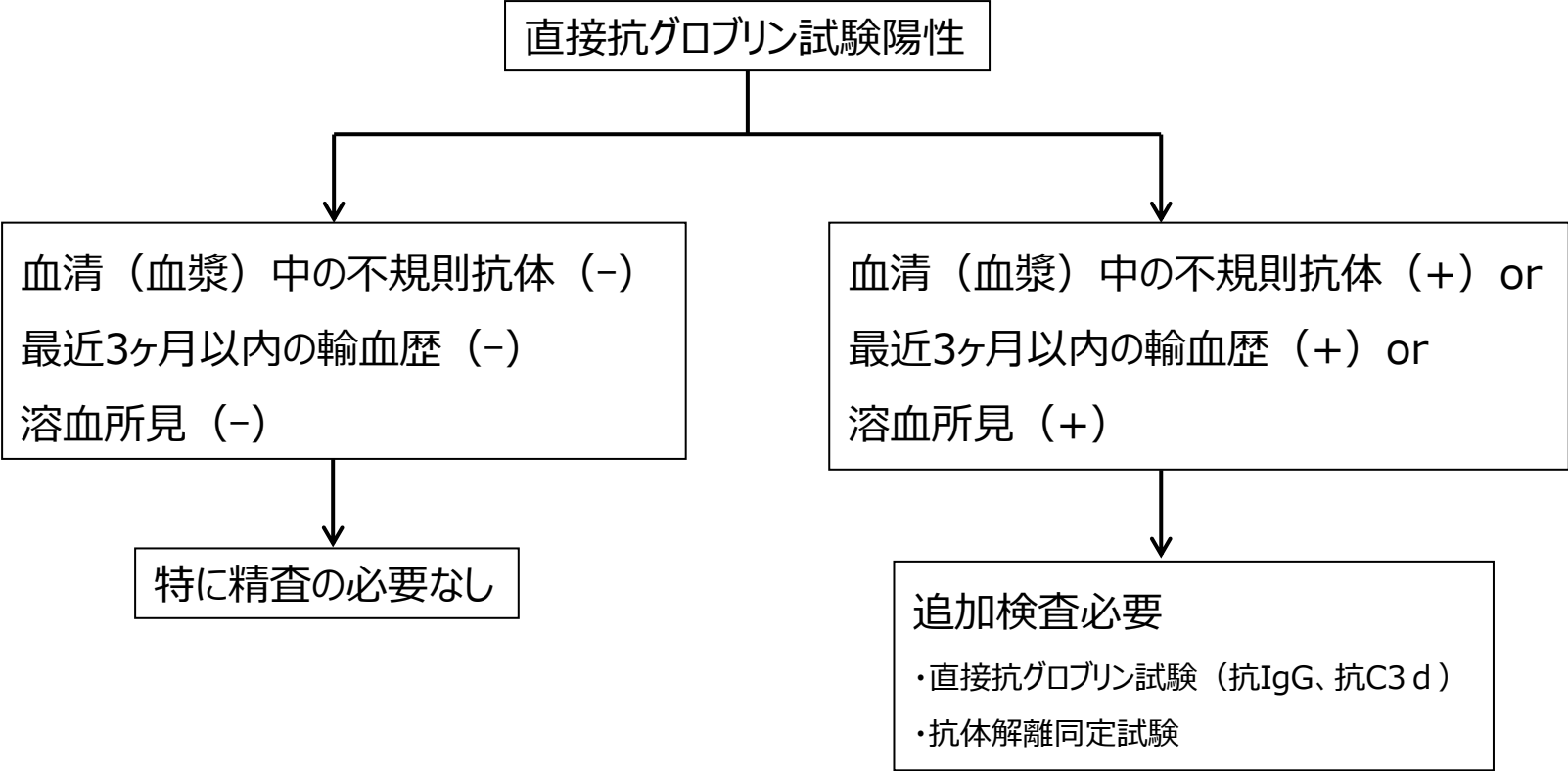
直接クームス試験（DAT）陽性の意義

溶血性貧血所見のある患者のDAT（+）は意義がある。

- ①自己免疫性溶血性貧血
- ②新生児溶血性貧血
- ③溶血性副作用
- ④薬剤誘発性溶血性貧血

溶血性貧血所見のない患者、健常供血者のDAT（+）は意義が非常に低い

直接クームス試験（DAT）陽性時の対応



どうということ？

～赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインより～

7. 自己抗体

7.1. 非溶血性の自己抗体の多くは臨床的意義がなく、検査上のみ問題となる。輸血に際しては、患者血漿（血清）中の自己抗体を自己赤血球、または抗原既知同種赤血球で吸着（吸収ともいう）除去した後、その上清で抗体スクリーニングを行う。

7.1.1. 上清の抗体スクリーニングが陰性の場合、通常の赤血球製剤を選択する。

7.1.2. 上清の抗体スクリーニングが陽性の場合、6. に準じて抗体同定や赤血球製剤の選択を行う。

7.2. 患者が自己免疫性溶血性貧血（autoimmune hemolytic anemia: AIHA）の場合、赤血球膜抗原に対する自己抗体は赤血球寿命の短縮を引き起こし、Hb値の低下をまねくことがある。輸血に際しては、患者血漿（血清）中の自己抗体を自己赤血球、または抗原既知同種赤血球で吸着除去した後、その上清を用いて抗体スクリーニングを行い、**同種抗体の有無を確認**する。

7.2.1. AIHA（温式自己抗体）の患者は一般に免疫能が亢進しており、輸血後に同種抗体を産生しやすい。

輸血後に発症する遅発性溶血性副作用を回避するため、**免疫原性が比較的高いRh血液型抗原（C, E, c, e）については、患者と一致する赤血球製剤を選択することが望ましい**〔たとえば、患者Rh表現型がR1R1（D+C+E-c-e+）の場合、R1R1の赤血球製剤を選択する〕。

7.2.2. 主な血液型抗原の特異性（抗e, 抗D等）を示す自己抗体を保有するAIHA患者については、対応する抗原陰性血の輸血が効果的な場合がある〔たとえば、患者Rh表現型がR1R1で自己抗体の特異性が抗eの場合、R2R2（D+C-E+c+e-）の赤血球製剤を選択する〕。

7.2.3. **主な血液型抗原に特異性をもつ自己抗体と臨床的に意義がある同種抗体が混在した場合、抗原陰性血の選択は同種抗体に対する特異性を優先する**

〔たとえば、患者Rh表現型がR1R1で自己抗体（抗e）と同種抗体（抗E）を保有する場合、R1R1の赤血球製剤を選択する〕。

7.3. 寒冷凝集素が結合した患者赤血球は非特異的凝集が起こりやすく、血液型判定に苦慮することがある。また、高力価の寒冷凝集素や温式自己抗体の反応が、間接抗グロブリン試験において低力価の同種抗体の反応を隠すことがある。そのため、AIHAの患者では、ABO、RhD血液型の正確な判定と、共存する同種抗体の有無の確認に重点をおいて検査する。

7.3.1. 寒冷凝集素病

(1) 37℃に加温した生理食塩液で患者赤血球を洗浄し、直接抗グロブリン試験を行う。

(2) 自己凝集による偽陽性反応を認めることがある。このため、ABO、RhD血液型検査や直接抗グロブリン試験を行う際には、試薬対照（製造業者の指定したもの、あるいは6%ウシアルブミン液）も同時に検査する。

(3) 37℃に別々に加温しておいた血漿（血清）および赤血球試薬を用いて、同種抗体の有無について検査する。血清を使用している場合、抗グロブリン試薬は抗IgG試薬が有用である。

7.3.2. 温式自己抗体

(1) 生理食塩液法用の血液型判定用抗体を用いて、ABO、RhD血液型、その他の血液型検査を行う。試薬対照について同時に検査する。

(2) 同種抗体の有無を確認するために、血漿（血清）を輸血前の患者赤血球を用いて吸着する（自己吸着）。一般に酵素処理した赤血球を用いると、自己抗体の吸着効率は上昇する。ZZAP法は、患者赤血球に結合している自己抗体の除去と酵素処理が同時に行える。また、グリシン・塩酸/EDTAで処理した患者赤血球を用いた後のPEG吸着法は操作性に優れ、所要時間も短く効果的に自己抗体を吸着できる。ただし、同種抗体の一部が自己抗体と一緒に吸着除去される場合があることに留意する

(3) 重度の貧血により、吸着に必要な患者赤血球が得られない場合がある。また**過去3カ月以内に赤血球輸血を受けた患者では、患者自己赤血球での吸着は好ましくない**患者の血液型に関する情報が得られている症例では、7.3.2. (2) に準じて患者と同じRh表現型(D, C, c, E, e)の赤血球で吸着を試みる。可能であれば、同じRh表現型に加えてJk(a-)およびJk(b-)の2種類の赤血球を吸着に用いる。

(4) 同種抗体の有無が確認できない施設では専門機関に相談する。

自己免疫性溶血性貧血（AIHA）への輸血の進め方

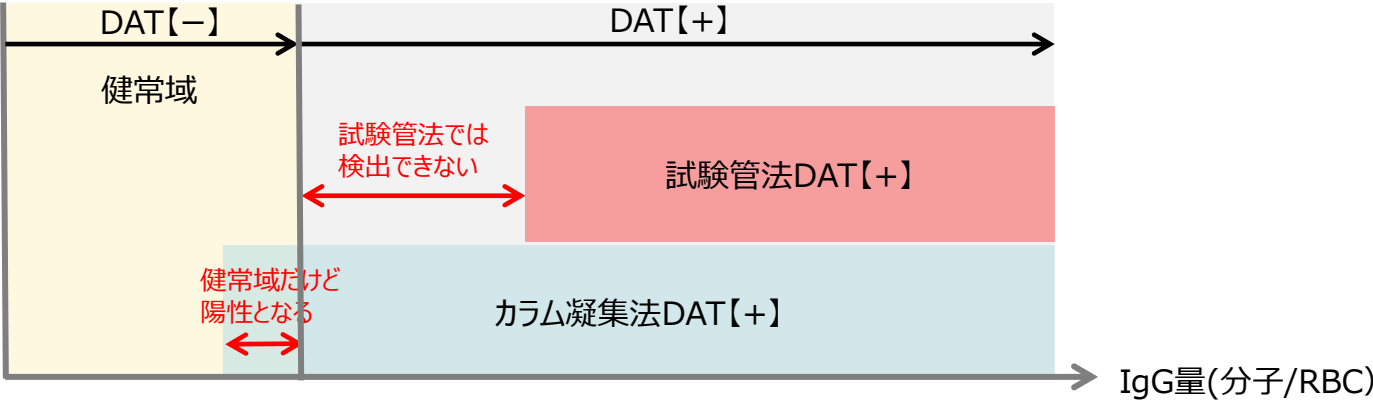
- 患者血清中に自己抗体以外に同種抗体の存在の有無を確認することが重要となる。
同種抗体の有無を確認するためには、血清中の自己抗体を患者自己赤血球により吸収する。
（※吸収操作は、輸血を実施している場合は、輸血前の自己赤血球を用いるのが良いが、輸血前血球が確保できない場合は、参考までに輸血後の血球で吸収操作してみても良い）
- 同種抗体と自己抗体が混在する場合は、同種抗体を優先に対応する。

	同種抗体	自己抗体
血液型特異性あり	対応抗原陰性血選択	<p>＜2つの考え方＞</p> <p>1.対応抗原陰性血選択</p> <p>2.可能な限り患者の血液型に合わせた製剤選択 （少なくともRh系抗原は合わせる）</p>
血液型特異性なし	<p>1.可能な限り患者の血液型同型を選択 （Rh系、Kidd、Duffyなど）</p> <p>2.交差適合試験（主）にて反応が弱い製剤を選択</p>	<p>1.可能な限り患者の血液型同型を選択 （Rh系、Kidd、Duffyなど） 少なくともRh系抗原は合わせる＝同種抗体の産生防止</p> <p>2.交差適合試験（主）にて反応が弱い製剤を選択</p>

検査法の違いによるDAT検出感度の違い

各検査法別のDAT検出感度

	IgG（分子/RBC）	C3d（分子/RBC）
試験管法	180～200以上	400～1100
カラム凝集法	70～80以上	
健常人	5～90	5～40



試験管法の検出感度が低い一因＝洗浄操作

洗浄操作により自己抗体（IgG）が外れてしまうことがある。

赤血球との親和性が低い自己抗体（**低親和性自己抗体**）は、洗浄操作で外れてしまうため
試験管法では【－】、カラム凝集法では【+】となる。



Point !

抗グロブリン試薬を用いる検査は途中で中断しない！特に生食洗浄後はノンストップで判定まで終わらせましょう。

※①血球洗浄後の放置 ②抗グロブリン試薬添加後の放置 により血球から抗体が解離し偽陰性になることがあります。

カラム法と試験管法・・・どっちがいいの??

～カラム凝集法の特徴～

【欠点】

- ・感度が高くなることにより、健常人や溶血所見のない患者でも陽性となることがある。

【利点】

- ・低親和性自己抗体※) によるAIHAも検出できる
- ・早期に自己抗体を検知できる。
- ・技師の技量による影響を受けない



溶血性貧血所見のない患者、健常供血者のDAT (+) は意義が非常に低い！！

※AIHAの診断は直接クームスの結果だけで判断するのではなく、あらゆる視点から溶血所見の診断アプローチが重要となる。

一般部門からのアプローチ
溶血所見の確認
(ヘモグロビン尿)



血液部門からのアプローチ
溶血所見の確認
(破碎赤血球 ↑、Hb ↓)



生化学部門からのアプローチ
溶血所見の確認
(LDH ↑、Bil ↑、ハプトグロビン ↓)



生理検査部門からのアプローチ
脾腫の確認



直接クームス試験 【重要Point】

- ①溶血所見の有無を確認すること
- ②施設で採用している検査法（試験管法orカラム凝集法）の特性を把握しておくこと
- ③定期的に精度管理を行い、検査結果の信頼性を確保しておくこと



【豆知識】

直接クームスに用いる検体は冷蔵保管してはいけません。

※冷蔵庫で保管した検体は、寒冷凝集素とともに感作された補体の影響で偽陽性となることがあります。

Rhコントロール【陽性】の対応

Rhコントロールの意義

自己凝集による偽陽性反応に起因する誤判定の防止
(直接抗グロブリン試験陽性、連鎖形成、寒冷凝集素など)

～赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインより～

4.RhD血液型検査

...

4.2.1 抗D試薬と同時にRhコントロールを用いて検査を実施する。

4.2.2 Rhコントロールを用いた検査は、自己凝集による偽陽性反応（直接抗グロブリン試験陽性など）に起因する誤判定を防止するために重要である。

...

4.4.3.1. Rhコントロールが陽性となった場合は判定保留とし、その原因を精査する。

4.4.3.2. 直後判定のRhコントロールが陽性の原因として、寒冷凝集素（冷式自己抗体）の影響が考えられる場合は、37℃に加温した生理食塩液による患者赤血球の洗浄が有効である。

4.4.3.3. D陰性確認試験のRhコントロールが陽性の原因として、直接抗グロブリン試験陽性が考えられる場合、グリシン・塩酸/EDTAやクロロキンニリン酸による患者赤血球処理が有効である。

抗D試薬の種類とRhコントロールの選択

抗D試薬には、抗D成分のほかに、タンパク成分（アルブミン）、非蛋白性反応増強剤（PVP：ポリビニールピロリドン）や防腐剤などが、メーカー独自に配合されている。

Rhコントロールは、「抗Dの陰性対照 = 抗Dを含まず、それ以外の成分が全く同一であること」が条件となる

参考までに・・・タンパク濃度だけ比較しても試薬によってこんなに違います！

		タンパク濃度
抗D	ポリクローナル抗体	22%
	モノクローナル抗体 + ポリクローナル抗体	6～9%
	モノクローナル抗体	1～4%
抗A・抗B試薬		3～4%
人血清		7～8%

施設でお使いの抗D試薬の添付文書を確認し、メーカー推奨のRhコントロールを確認しましょう♪

Q. R h コントロールは、オモテ試験の陰性対照と解釈していいの？？

A. Rhコントロールは、抗 A 抗 B 試薬とは、蛋白濃度やそれ以外に含まれる成分が異なりますので、厳格には、おもて試験全般における陰性対照としての意義をなしえません。
ただし自己凝集があるかどうか目安にはなりますので、Rhコントロール陽性の場合はオモテ試験の反応性にもその影響を受けていると考え、結果は無効とし精査されることを推奨します。

Rhコントロール陽性時の対応

【直後判定のRhコントロールが陽性の場合＝寒冷凝集素が原因】

- ①患者赤血球を37℃に温めた生食で洗浄する
- ②患者赤血球をDTTまたは2ME処理し使用する
(赤血球に結合したIgMを失活させてから検査)

【D陰性確認試験でRhコントロールが陽性となった場合＝温式自己抗体が原因】

- ①患者赤血球の直接抗グロブリン試験を実施する
- ②患者赤血球をグリシン・塩酸/EDTAやクロロキンニリン酸（自己抗体解離）により処理して検査する
(直接クームス試験陰性化を確認する)
- ③上記処理でも直接クームスが陰性化しない場合は抗Dを用いた吸着解離試験を行い
解離液中の抗Dを確認する。

※解離液がすべての赤血球と陽性になってしまう場合は、D陰性赤血球で解離液を吸収後検査する。

輸血前検査が陽性となる原因と対応例

異常反応例と対応例

抗体スクリーニング（陰性） / クロスマッチ直後判定（不適合）
<ul style="list-style-type: none">・ドナー赤血球のABO血液型不適合（受血者検体・ドナー検体の間違いなど） → 血液型再検・A₂型またはA₂B型の血清中に存在する不規則抗A₁ → 間接抗グロブリン試験で抗A₁の有無確認・室温反応性の不規則同種抗体（抗体スクリーニングにおいて生食法を実施していない場合） → 生食法にて不規則抗体検査実施・冷式自己抗体 → 加温。直接抗グロブリン試験実施・輸注された抗A/抗B → 薬剤投与歴の確認
抗体スクリーニング（陰性） / クロスマッチ間接抗グロブリン法（不適合）
<ul style="list-style-type: none">・ドナー赤血球が直接抗グロブリン試験（陽性） → 製剤の直接抗グロブリン試験実施・ドナー赤血球が保有している低頻度抗原に対する抗体 → 別製剤と交差適合試験実施・輸注された抗A/抗B → 薬剤投与歴の確認
抗体スクリーニング（陽性） / クロスマッチ（適合）
<ul style="list-style-type: none">・抗H（IH）自己抗体 → 直接抗グロブリン試験実施・血球試薬希釈液（浮遊液）に依存する抗体 → 血球試薬を生食洗浄し、生食浮遊の血球試薬を調製し再検・量的効果を示す抗体が存在し、ドナー血球がヘテロ接合の場合 → 抗体同定・ドナー赤血球が対応抗原を保有していない → 抗体同定
抗体スクリーニング（陽性） / クロスマッチ（不適合） / 自己対照（陽性） / DAT（陰性）
<ul style="list-style-type: none">・反応増強剤中の成分に対する抗体または、反応増強剤依存性の自己抗体 → 反応増強無添加IAT実施（弱い連鎖形成） → 生食置換

内部精度管理

～赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインより～

3.3.1 実施する検査方法の管理に適したタイミング（**試薬ロット変更時、業務開始前、検査バッチ毎**など）で各種コントロールを測定し、試薬の性能や検査プロセスに有効性を確認する。

輸血検査における精度管理

種類	内部精度管理（既知の管理）		外部精度管理（未知の管理）	
目的	試薬性能の管理	検査プロセスの管理	手技・手順の管理	結果解釈能の管理
方法	同一サンプル（コントロール）の繰り返し測定で変動の有無により把握		外部精度管理プログラムへの参加（日臨技や香臨技サーベイ）	
			他施設との差を把握	解答に基づく振り返りによる結果把握
必須事項	添付文書・ガイドライン等の遵守 器具の定期的な検証 機器のメンテナンス マニュアルのアップデート		継続的な参加 課題点の確認・見直し 改善策の策定・実施	
	実施記録の保管 結果に基づく適切な改善活動			

最近、外部精度管理の重要性がクローズアップされる理由

- ☞ 自施設の検査精度を客観的に評価し、位置づけを把握する。可視化された問題点について、是正や改善を行うことが標準化に繋がる。

I. 試薬性能の管理とは？

・・・例えば、A型がA型と判定できるかの確認

用手法では、検査前に試薬性能の担保や品質管理が必須。

II. 検査プロセスの管理とは？

・・・検査結果の変動要因が許容範囲内であるかの確認

変動要因となる ①器材・機器 ②検査環境 ③技師の技量を定期的にチェックする

精度管理期間の設定目安：機器その他 ～AABBテクニカルマニュアルより～

管理品目	管理項目	管理間隔
恒温層	温度	日
温度計	温度表示値	年
タイマー	時間	年
ピペット	分注量	年
遠心機・洗浄機	生食量	週
	速度	3ヶ月
	時間	3ヶ月
試薬	精度	日
生理食塩液	pH	日

あくまでも推奨！

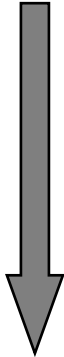
施設の検査件数や業務・コスト負担を考慮し

実施内容や頻度を設定しましょう♪

件数が少ないのであれば、検査実施時、機器
使用時に精度管理を実施すれば十分結果の
信頼性は確保できる！

実施頻度

毎日点検、毎週点検で異常が発生した場合



	月	火	水	木	金	土	日	月
毎日点検	○ 正常	○ 正常	○ 正常	○ 正常	○ 正常			× 異常
毎週点検	○ 正常							× 異常

結果の信頼性は、毎日点検の場合は前週金曜まで、毎週点検の場合は前週火曜日までとなる

	月	火	水	木	金	土	日	月
毎日 点検	○ 正常	○ 正常	○ 正常	○ 正常	○ 正常	←→		× 異常
毎週 点検	○ 正常	←→ 検査結果の信頼性なし						× 異常

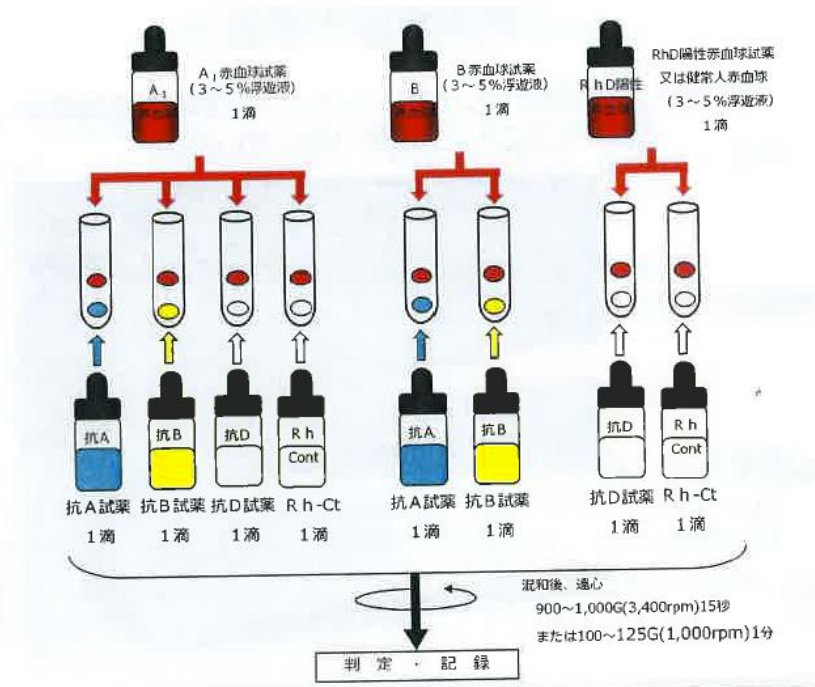
実施間隔が長くなれば、異常が発生した場合、検査結果の信頼性を振り返って再確認する期間も長くなる。（実施間隔＝振り返り期間）

ABO・RhD血液型検査【試験管法】（例）

試薬性能の確認

試薬	陽性コントロール赤血球	陰性コントロール赤血球
抗A	A型	B型
抗B	B型	A型
抗D	D陽性	D陰性

方法



間接抗グロブリン試験【試験管法】（例）

試薬性能の管理

検査プロセスの管理

スポイド操作

恒温槽の管理

洗浄操作

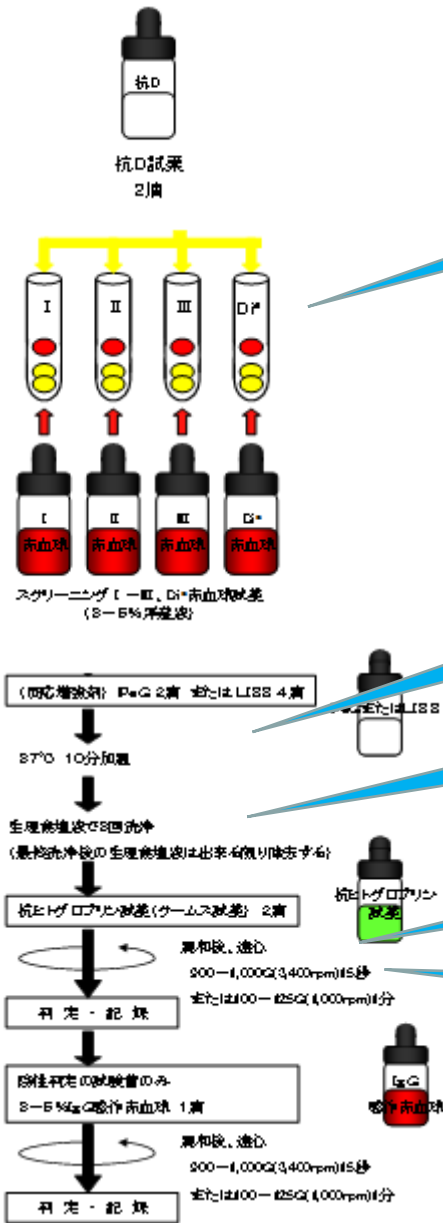
遠心機の管理

凝集反応の目合わせ

生食の性能

パネル血球の性能

抗グロブリン試薬の性能



機材点検

輸血部門では、他部門と同様に検査結果の信頼性を担保することに加え、

血液製剤の品質についても安全性を保証できるよう体制を整える責務がある。

製剤保管管理機器：製剤の品質保証



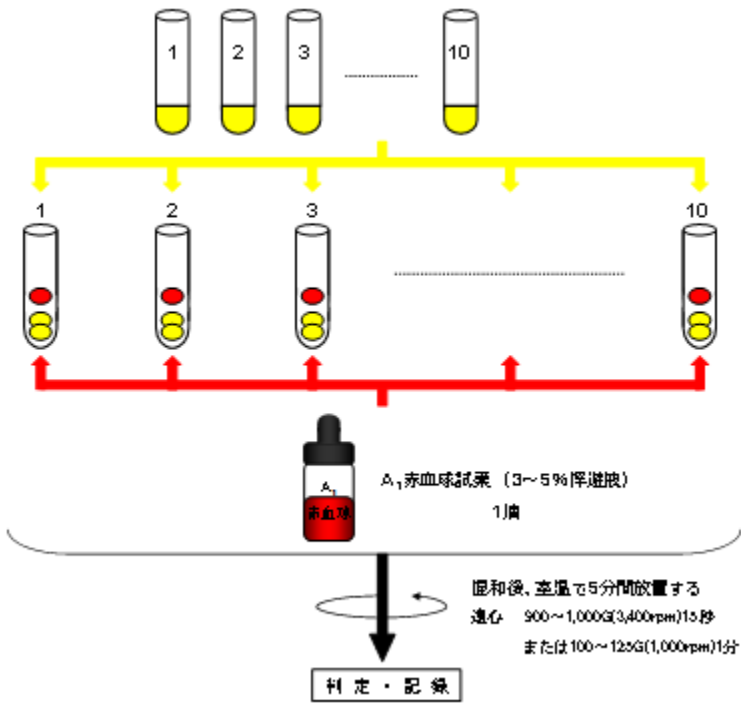
検査用機器：検査結果の信頼性を担保



技術チェック

凝集反応の目合わせ

(方法)



- ①O型の血漿を生理食塩水で希釈し、凝集強度の異なる検体を作成する
- ②A₁型赤血球と反応させる
(部分凝集用にO型赤血球を添加したものを別途用意する)
- ③0, 1+, 2+, 3+, 4+, mfとなる検体を用いる
(基準となる判定は、輸血責任者の判定をもとにする)
- ④検査員に検体を配布し、結果を統計する
- ⑤輸血責任者から、**結果のフィードバックと評価**する

(凝集目合わせのポイント)

- | | |
|----------------------|---------------|
| ①試験管へのマーキング、検体や試薬の分注 | ②スポイドの使用法 |
| ③遠心機へのセット、取り出し | ④判定時に持つ試験管の本数 |
| ⑤凝集判定時の試験管の操作 | ⑥赤血球浮遊液の濃度 |
| ⑦遠心機の設定 | ⑧判定時の背景 |

スポイドの滴下量検定

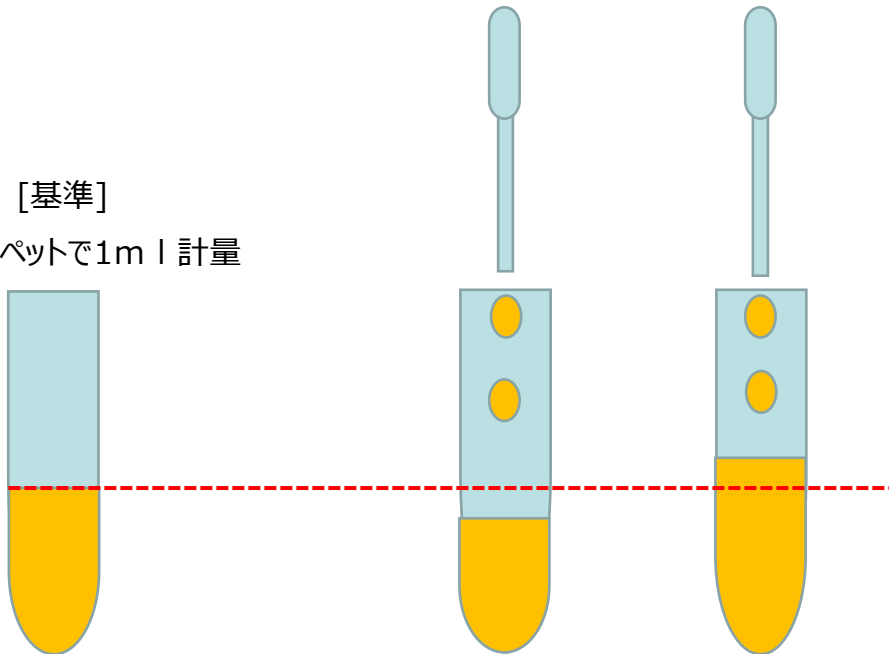
通常スポイド1滴 = $50\mu\ell$ なので、20滴滴下すれば1mℓとなるはず・・・

20滴滴下し、基準との量の違いを比べる



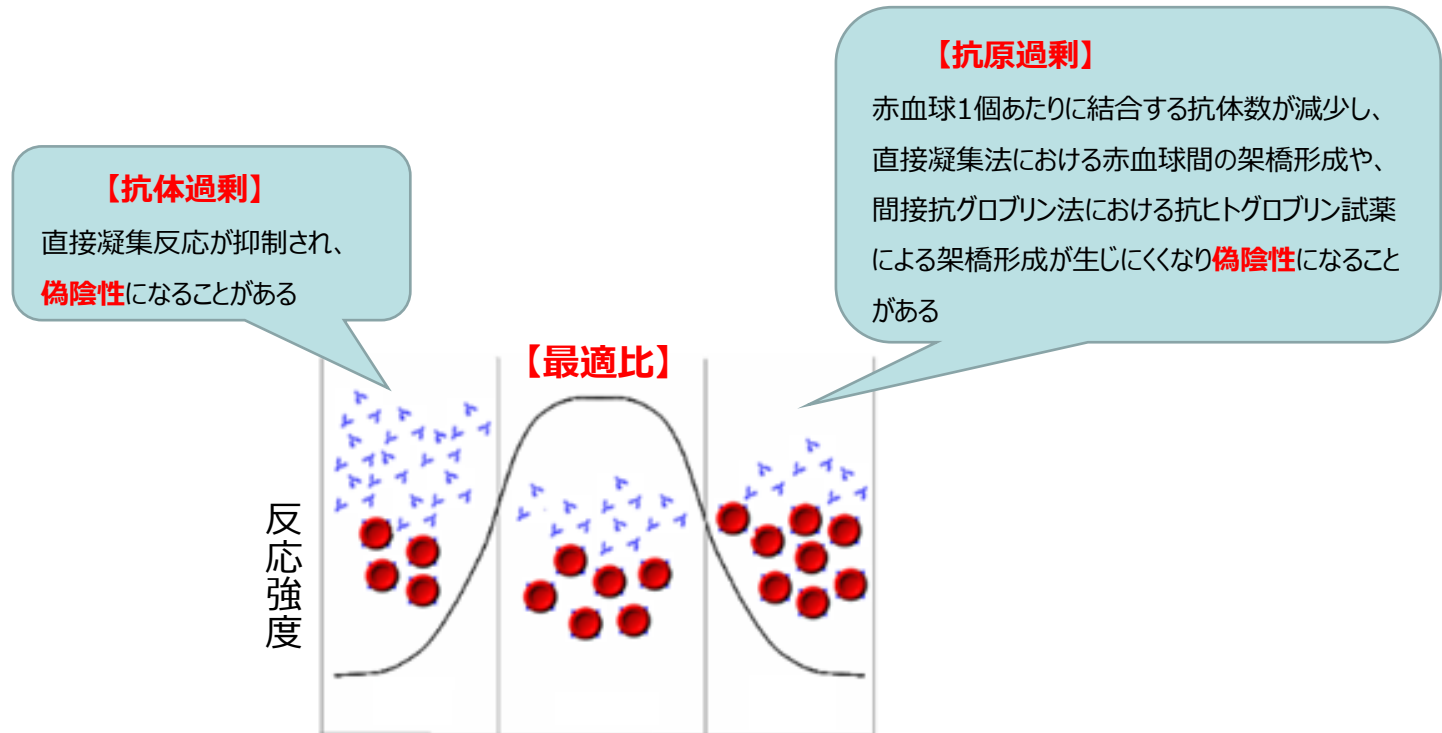
- ①滴下手技の違いによる個人差を把握する。
 - ②適切な手技で滴下してもスポイドの硬度や先端の形状などにより、1滴滴下量には誤差が生じる。
- 自施設で使用している1滴量を把握し、滴下数を調整する。

[基準]
マイクロピペットで1mℓ計量

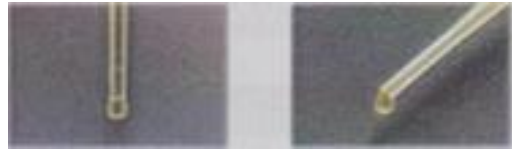


スポイドの滴下量の重要性

抗原と抗体の理想的な混合比率は赤血球沈渣：血清＝1：80以上
3～5%赤血球浮遊液：血清に置き換えると、1滴：2～4滴



樹脂製



角度による1滴量

垂直 < 傾斜

ガラス製

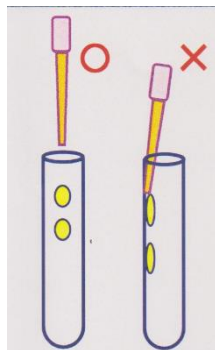


垂直 > 傾斜

スポイド種類と角度によって滴下量は異なります



試薬瓶のスポイド部分の形状による注意！
スポイトの切り口が底面に対し水平になるように滴下しよう



スポイト先端が試験管に触れないよう注意し、
管底へ直接垂直に滴下しましょう。

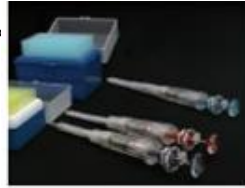


スポイド操作・・・意外と重要 ♪

ところで・・・「マイクロピペッターは正しく使ってますか？？定期的に検定してますか？？」

【手順】

- ①計量する容量に合わせてマイクロピペッターとチップを選ぶ。



- ②ダイヤルを回して、いったん計量する容量より多めの数値に合わせ、ゆっくりダイヤルを回して計量する量に合わせる



- ③マイクロピペッターは片手でしっかり握りこむように持ち、親指でプッシュロッドを操作する



- ④チップラックに入ったチップにマイクロピペッターを差し込み、軽くとんとん叩くようにして装着する

- ⑤プッシュロッドを第1ストップまで押した状態で、チップの先端を液面につける

- ⑥ゆっくりプッシュロッドを押さえていた指をはなし、液体を吸い上げる

- ⑦測り取る容器に移動し、ゆっくり第1ストップまで押し、液を排出し、さらに第2ストップまでプッシュロッドを押し下げて、チップ内の液を完全に排出する

- ⑧プッシュロッドを押さえていた指をゆっくりと離し、プッシュロッドを元の位置にもどす

- ⑨チップ回収ボックスの中で、チップイジェクターボタンを押して、チップを外す。



マイクロピペッターを正しく操作して、希釈系列をきちんと調整しないと抗体価等の結果に影響するよ～～！