

輸血テクニカルセミナー2015

実技解説 - 血液型 -

県立広島病院 臨床研究検査科

藤井 明美



凝集反応の目合わせ

- 目的 -

- ◆ 施設内（または各集団内）での凝集の強さや判定基準の統一化.
- ◆ 施設内（または各集団内）の術者間差を縮小させる.

☞ 典型的な反応強度を示すようあらかじめ調製した試料を用いた「凝集反応の目合わせ」は効果的

☞ 実技研修会の初めに各種確認事項の一つとして実施することは有用



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

◆ テクニカルエラーの防止

(試験管のマーキング, 検体や試薬の分注漏れなど)

■ 患者名, 検査項目, 試薬名などを試験管に明記する.

- 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) .
- 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.



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

■ 抗体試薬，患者血漿(血清)，患者赤血球，試薬赤血球の順に分注する.

- 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(分注忘れを目視確認できるように) .
- 血漿(血清)が溶血している場合や解離液は血漿(血清)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.
- 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.

■ 次のステップに移る前には検体や試薬が正しく分注されていることを確認する.

- 次のステップへ移る前に必ず目視確認する.



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

◆ 遠心機へ試験管をセットおよび取り出す際の注意点

- 遠心架のNo.1から試験管をセットし始めるよう心掛ける
試験管は順番に試験管立てに戻す。
- セルボタンを崩さないように静かに取り出す。

◆ 判定時いちどに持つ試験管の本数

- 検査目的や力量に合わせて試験管を振る。
 - たとえば…オモテ検査：抗Aと抗B用の2本
ウラ検査：A₁赤血球とB赤血球用の2本
RhD検査：抗Dとコントロール用の2本
抗体スクリーニング：4本一緒（または2本ずつ2回）など



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

◆ 凝集判定時の凝集を確認する際の背景

- ビューボックスまたは背景の白く明るい場所で判定する。

◆ 凝集判定を行う時の試験管の操作

- 感染防止のため目の高さより低い位置で観察する。
- 基本的にはセルボタンは上向きで静かに試験管から剥がすようにゆっくり傾ける。



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

◆ 凝集の強さに差が出たときの原因と対策

確認事項

■ 試験管の判定時の振り方は適切であったか？

基準より 弱い⇒試験管の振りすぎ

強い⇒セルボタンが試験管壁から完全に剥がれていない

■ 反応時間，反応温度(室温) は適切であったか？

■ スポイトの傾け方による1滴の量に違いはなかったか？

[1滴の容量] 樹脂製スポイト 傾斜<垂直

ガラス製 傾斜>垂直



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

■ 遠心機の設定は正しかったか？

- 遠心条件：900～1,000G(3,400rpm) 15秒

■ 赤血球浮遊液の濃度は正しかったか？ 使用前に濃度を均一にしたか？

- 赤血球試薬や赤血球浮遊液は必ず使用時にスポイトでよく混和し濃度を均一にしてから用いる。
- 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の残った試薬はすべて元の浮遊液へ戻す。



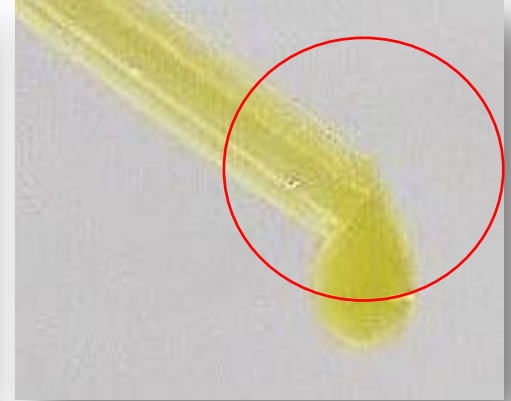
凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

スポイトの種類と角度による1滴量の違い

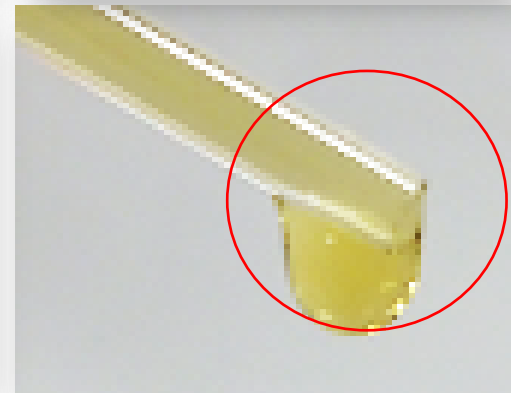
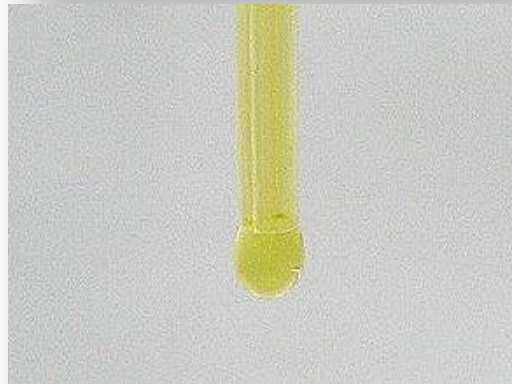
垂直の場合

傾斜した場合

樹脂製

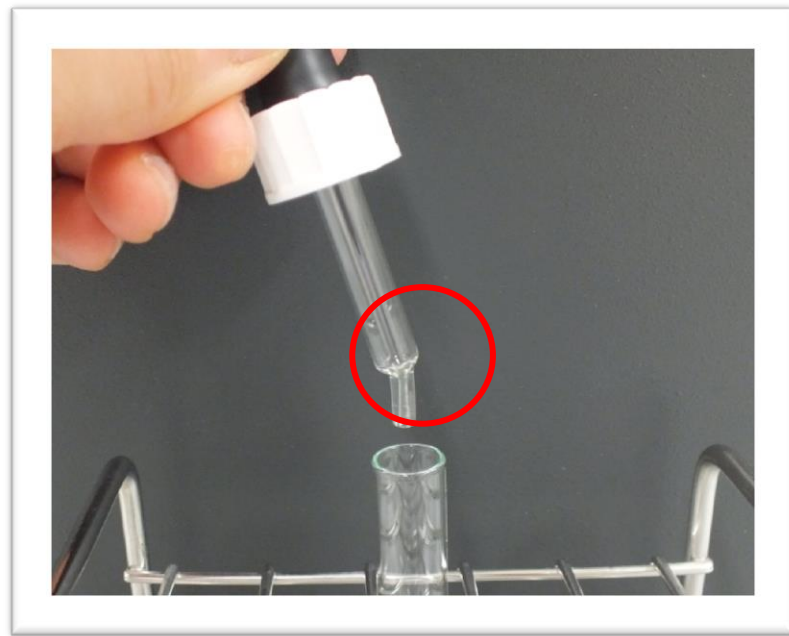
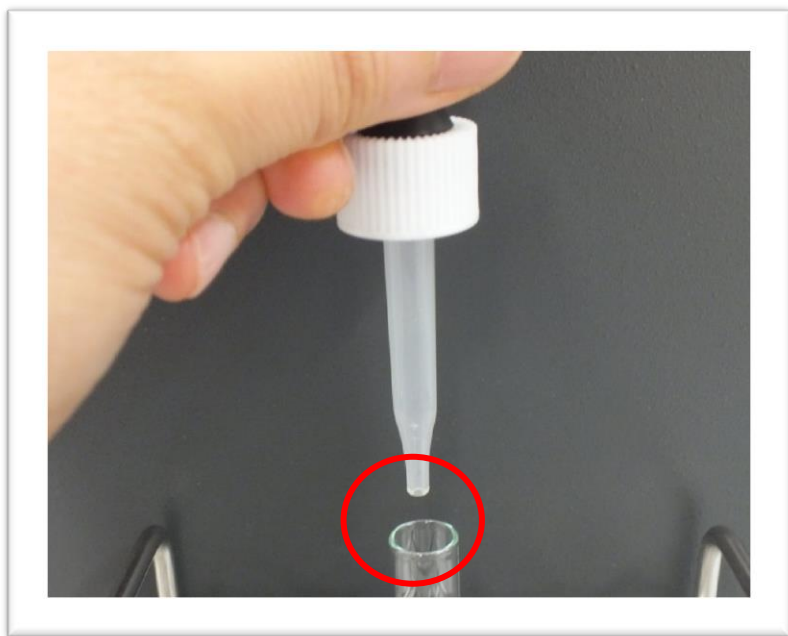


ガラス製



凝集判定の目合わせ - 指導のポイント -

試薬の滴下の仕方



スポイトの切り口が底面に対し水平になるように滴下
(試薬瓶のスポイト部分先端の形状に注意)



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント -

◆ 3～5%赤血球浮遊液作製の基本操作や手順

- 赤血球浮遊液は1回洗淨を行い作製する。
 - 患者血漿中の夾雑物質の影響を回避するため原則必要。
- 再検査を実施する際には赤血球浮遊液から作り直す。
 - 分注ミスや再現性を確認する為に赤血球浮遊液から作り直す。

◆ 検体および試験管の並べ方、マーキングの仕方について

- 患者名（または識別番号）、検査項目、試薬名などを試験管に明記する。
- 試験管はワークシートの記入欄に準じて並べる。



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント -

◆ 複数の検体を処理する場合の検体や試薬の分注手順について

■ 検体の取り間違いを防止する方策をとる.

- 試験管は一列に並べる, 遠心機へは患者ごとにローターの1番から順にセットする, 試験管の表記箇所が手前になるよう並べる…など

◆ 検体・試薬の入れる順番について

- 試薬の入れ忘れ、コンタミネーションを防止する目的を理解する.



ABO/RhD血液型

- 指導のポイント -

◆ ABOにおける判定上の注意点, 確認すべき点について (再検査基準)

■ オモテ検査でどのような反応が再検査, 問い合わせの対象となるか?

- 3+以下 (正しい検査が実施されていること前提)

■ ウラ検査でどのような反応が再検査対象となるか?

- (推奨) おおよそ1+程度 (正しい検査が実施されていること前提)

☞ 部分凝集またはオモテ・ウラ検査不一致ありの場合は反応強度にかかわらず再検・精査が必要.

最終的に再検査や精査を行うかどうかの判断は患者情報やその他の要因などを総合的に考慮する必要がある。



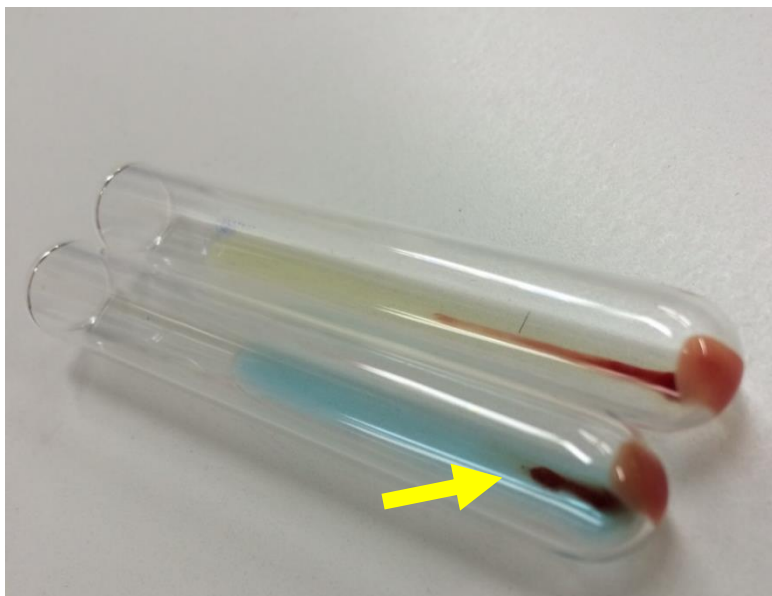
ABO/RhD血液型

- 指導のポイント -

オモテ試験の観察のコツ -部分凝集の見え方-

直後判定

再浮遊→再遠心・判定



- ◆ 非凝集赤血球が少ない場合は最初に非凝集赤血球が流れる
- ◆ 凝集赤血球（凝集塊）が少ない場合は最初に凝集塊が流れる

- ◆ 非凝集赤血球が少ない場合は非凝集赤血球は試験管底に残る
- ◆ 凝集赤血球（凝集塊）が少ない場合は凝集塊は試験管底に残る

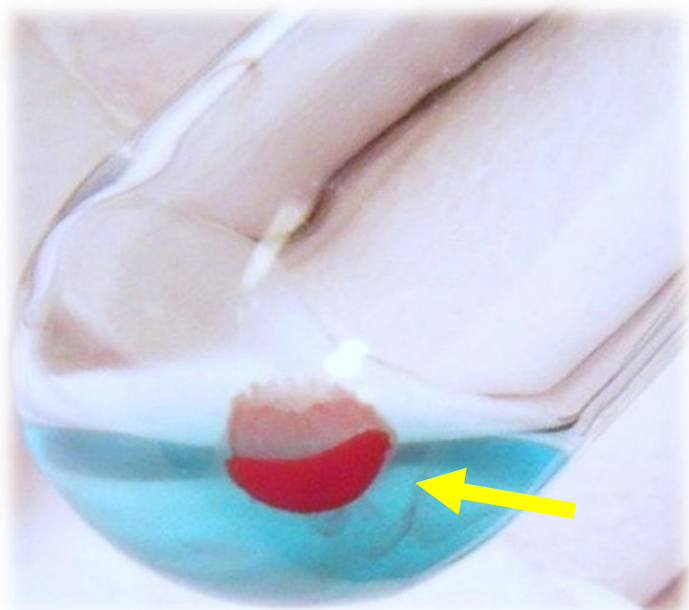


ABO/RhD血液型 - 指導のポイント -

オモテ試験の観察のコツ -部分凝集の見え方-

A/Oキメラ (≒O型輸血)

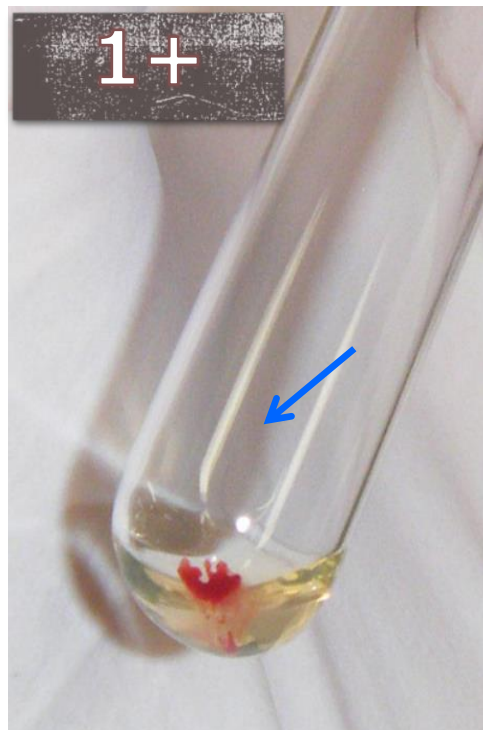
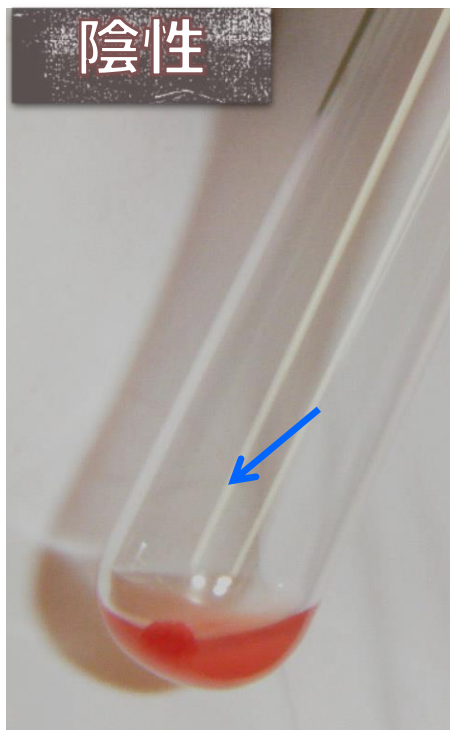
A亜型(A₃)



- ◆ A/Oキメラでは非凝集部分 (O型) が試験管底に残り凝集部 (A型) は一塊の凝集として試験管から剥がれる.
- ◆ 亜型では弱い凝集のため崩れながら剥がれる.



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント - ウラ試験の観察のコツ



凝集の観察は試験管から剥がれる瞬間を見る

(注意) 試験管を振りすぎると弱陽性を陰性と判定.



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント -

◆ RhD検査における判定上の注意点，確認すべき点について

■ 直後判定がw+や1+の弱反応の場合に再検を行う。

➤ 間接抗グロブリン試験実施

- ✓ 輸血用血液製剤の選択は直後判定が陽性か陰性かで決まる。（「輸血療法の実施に関する指針」）
- ✓ 間接抗グロブリン試験結果が強陽性になった場合はD陽性と判定する。
- ✓ このような場合には通常D陽性血液を準備するが、患者が妊娠可能な女性や女兒の場合はD陰性血を選択しても間違いではない。
- ✓ 後々確認が必要になる場合を想定し、抗D試薬との反応が弱かったという結果を記録しておくことも必要である。



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント -

◆ RhD検査における判定上の注意点，確認すべき点について

■ Rhコントロール（陰性対照試薬）を併用しているか？

- 原則として必要。
（目的）自己凝集による偽陽性反応に起因する誤判定防止
（直接抗グロブリン試験陽性，連鎖形成，寒冷凝集素 等）
- 抗D試薬の添付文書で指定されたものを用いる。

■ D陰性確認試験を実施しているか？

- D陰性との鑑別するため原則として必要。
（注意）IgMモノクローナル抗体が単独の抗D試薬はD陰性確認試験に用いることができない



ABO/RhD血液型 - 指導のポイント - 異常反応を認めた場合

◆ 必ず確認する事項

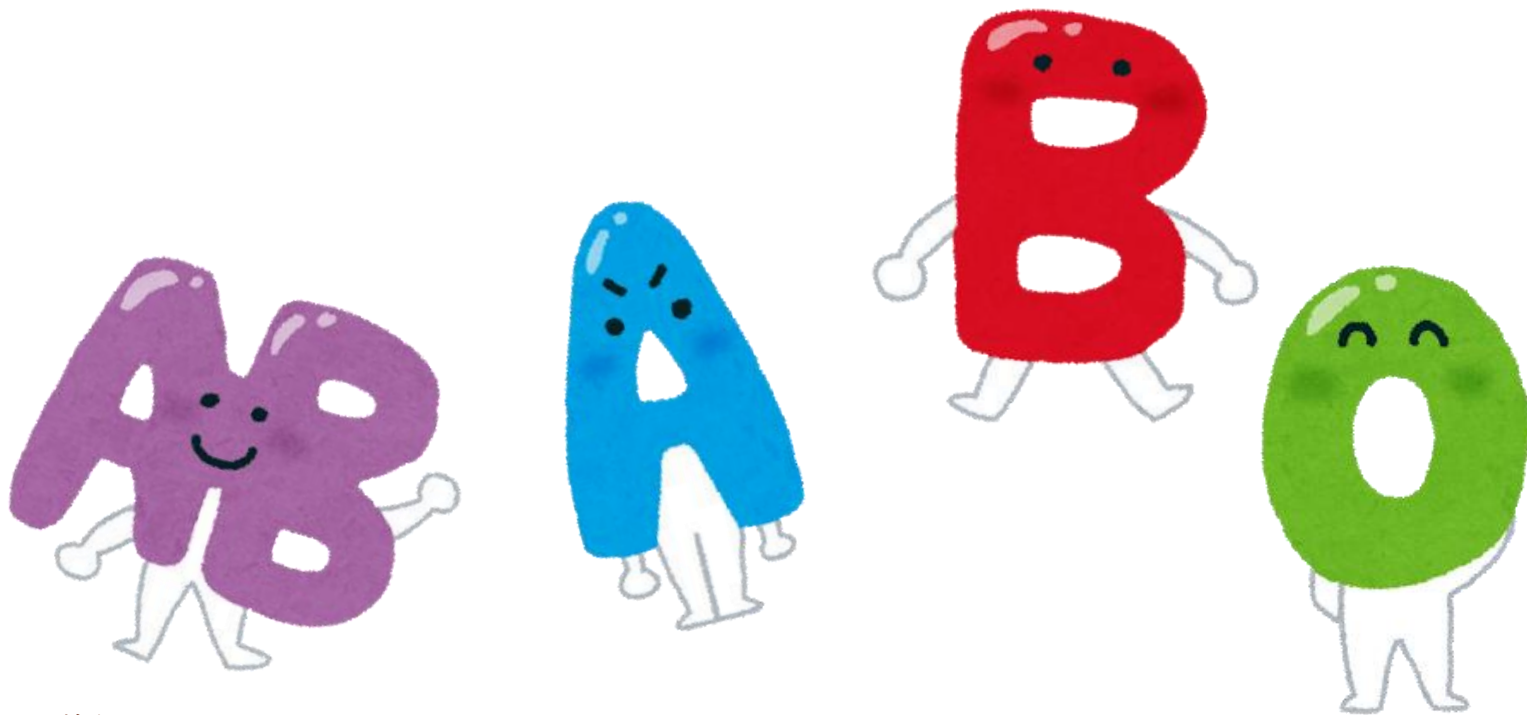
- 再現性
- 試薬の反応性
- 患者情報

◆ テクニカルエラー防止のためのチェック事項

- 試薬，検体の入れ忘れ
- 溶血反応の見落とし
- 赤血球浮遊液の濃度
- 遠心機の遠心条件
- 反応温度
- 試薬，検体，試験管などの器具類，生理食塩液の汚染
- 判定ミス
- 記入ミス



本日の検体の検査結果



血液型検査 - 検体 1 -

◆ 検査結果

オモテ検査			ウラ検査			ABO 総合判定
抗A 試薬	抗B 試薬	判定	A ₁ 赤血球	B 赤血球	判定	
0	4+	B型	3+	0	B型	B型

RhD検査		
抗D 試薬	Rh コントロール	判定
0	0	保留



血液型検査 - 検体 1 -

◆ 現時点で選択すべき血液製剤の血液型

■ 赤血球製剤

B型 RhD陰性

■ 新鮮凍結血漿

B型 RhD陰性

■ 濃厚血小板製剤

B型 RhD陰性



血液型検査 - 検体 1 -

◆ 異常反応は？考えられる要因と追加検査

➤ 抗D試薬との反応が陰性

[原因]

- RhD陰性
 - weakD
 - partialD
- } weak D

[追加検査]

- D陰性確認試験（weakDとD陰性との鑑別）
- モノクローナルとポリクローナル抗体の抗D試薬での検査（Partial Dの鑑別）
- 不規則抗体検査
- Rh系フェノタイプの鑑別（Del, Rhnullなど）



血液型検査 - 検体 1 -

◆ 追加検査結果

D陰性確認試験

抗D 試薬	Rh コントロール	IgG感作 赤血球
0	0	+

RhD 総合判定
陰性



血液型検査 - 検体 2 -

◆ 検査結果

オモテ検査			ウラ検査			ABO 総合判定
抗A 試薬	抗B 試薬	判定	A ₁ 赤血球	B 赤血球	判定	
m f	0	保留	4+	4+	O型	保留

RhD検査			RhD 総合判定
抗D 試薬	Rh コントロール	判定	
4+	0	陽性	陽性



血液型検査 - 検体 2 -

◆ 現時点で選択すべき血液製剤の血液型

■ 赤血球製剤

O型 RhD陽性

■ 新鮮凍結血漿

AB型 RhD陽性

■ 濃厚血小板製剤

AB型 RhD陽性



血液型検査 - 検体 2 -

◆ 異常反応は？考えられる要因と追加検査

➤ 抗A試薬との反応に部分凝集がみられた

[原因]

- ABO血液型異型輸血後
- 疾患による抗原の減弱化
- 異型造血幹細胞移植後
- A亜型, キメラ・モザイク ☞ ただしウラ検査の結果から否定的

[追加検査]

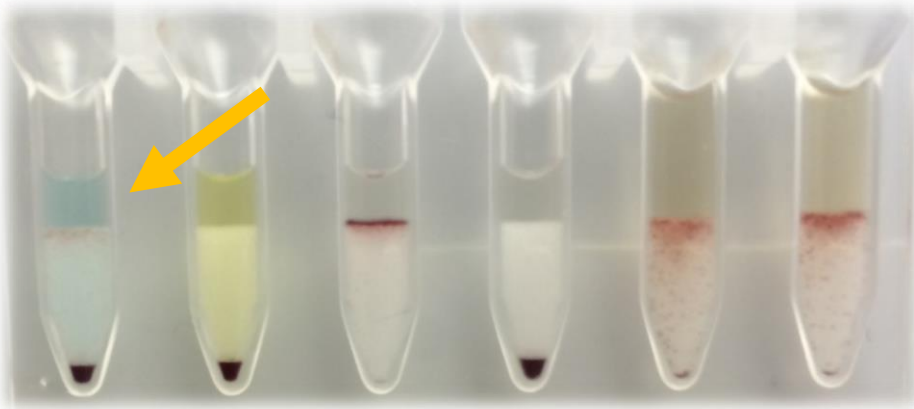
- 他院での赤血球輸血の有無および血液型確認
- 疾患名や移植歴などの患者情報収集
- 分別凝集法による混合赤血球の分離
- 血漿（血清）中のA糖転移酵素活性測定
- 不規則抗体検査
- 唾液の型物質の確認（中和抑制試験） ←分泌型の場合 など



血液型検査 - 検体 2 -

〔 赤血球：O型RBC+A型RBC10% 〕
〔 血漿：O型FFP 〕

◆ 各検査方法による部分凝集の見え方



カラム凝集法



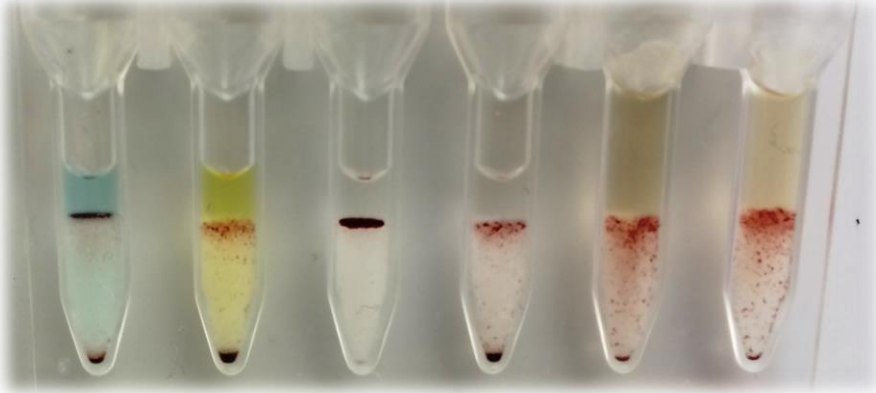
スライド法



血液型検査 - 検体 2 -

◆ O型患者へA型RBC輸血(major mismatch)した場合

O型全血へA型赤血球10%添加



確認事項

- 溶血
- 部分凝集
- 直接抗グロブリン試験陽性

* カラム凝集法では試験管法とは若干異なる反応像となる場合がある



血液型検査 - 検体 3 -

◆ 検査結果

オモテ検査			ウラ検査			ABO 総合判定
抗A 試薬	抗B 試薬	判定	A ₁ 赤血球	B 赤血球	判定	
0	0	O型	3+	0	B型	保留

RhD検査			RhD 総合判定
抗D 試薬	Rh コントロール	判定	
4+	0	陽性	陽性



血液型検査 - 検体 3 -

◆ 現時点で選択すべき血液製剤の血液型

■ 赤血球製剤

O型 RhD陽性

■ 新鮮凍結血漿

AB型 RhD陽性

■ 濃厚血小板製剤

AB型 RhD陽性



血液型検査 - 検体 3 -

◆ 異常反応は？考えられる要因と追加検査

➤ ABO血液型でオモテ・ウラ不一致

[原因]

- 亜型
- 免疫グロブリンの低下 ☞ ただしA₁赤血球との反応結果から否定的

[追加検査]

- 疾患名、移植歴、家族などの患者情報確認
- 吸着解離試験（抗B試薬による）
- 血漿（血清）中のB糖転移酵素活性測定
- 抗Hレクチンとの反応
- 唾液中の型物質の確認（中和抑制試験）☞分泌型の場合



各検体における確認事項（目的）

検体1（RhD陰性）

- RhD陰性時の検査の流れ
- RhDコントロールの検査目的および必要性
- D陰性確認試験の実施
- RhD陰性時の血液製剤の選択

検体2（部分凝集：major mismatch）

- 部分凝集の検出，凝集判定
- 部分凝集における検査結果の解釈、追加検査の選択
- 部分凝集（血液型未確定）時の血液製剤の選択

検体3（オモテ・ウラ検査不一致：亜型）

- オモテ・ウラ検査不一致における検査結果の解釈、追加検査の選択
- オモテ・ウラ検査不一致時（血液型未確定）における血液製剤の選択



輸血検査の標準化を目指して

