

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂2版）

Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories in Japan
(2nd edition)

奥田誠¹⁾、石丸健²⁾、内川誠³⁾、梶原道子⁴⁾、北澤淳一⁵⁾、国分寺晃⁶⁾、小林信昌⁷⁾、小山典久⁸⁾、高橋智哉⁹⁾、竹下明裕¹⁰⁾、安田広康¹¹⁾

1) 東邦大学医療センター大森病院 輸血部、2) 日本赤十字社 血液事業本部 技術部 検査管理課、3) 関東甲信越ブロック血液センター、4) 東京医科歯科大学医学部附属病院 輸血部、5) 青森県立中央病院 臨床検査部、6) 広島国際大学保健医療学部、7) 東海大学医学部附属病院 臨床検査技術科 輸血室、8) 豊橋市民病院 小児科、9) 吉田学園医療歯科専門学校 臨床検査学科、10)、11) 福島県立総合衛生学院

キーワード：赤血球 不規則抗体、交差適合試験、ガイドライン

Makoto Okuda¹⁾, Ken Ishimaru²⁾, Makoto Uchikawa³⁾, Michiko Kajiwara⁴⁾,
Junichi Kitazawa⁵⁾, Akira Kokubunji⁶⁾, Nobumasa Kobayashi⁷⁾, Norihisa Koyama⁸⁾,
Tomoya Takahashi⁹⁾, Akihiro Takeshita¹⁰⁾, Hiroyasu Yasuda¹¹⁾.

- 1) Division of Blood Transfusion, Toho University Omori Medical Center
- 2) Japanese Red Cross Society, Blood Service Headquarters, Technical Department, Laboratory Management Division
- 3) Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center
- 4) Department of Transfusion Medicine, Medical Hospital, Tokyo Medical and Dental University
- 5) Division of Clinical Laboratory, Aomori Prefectural Central Hospital
- 6) Faculty of Health Sciences, Hiroshima International University
- 7) Division of Medical Technology and Department of Blood Transfusion Service, Tokai University Hospital
- 8) Department of Pediatrics, Toyohashi Municipal Hospital
- 9) Department of Medical Technologist, Yoshidagakuen Medical and Dental College
- 10) Transfusion and Cell Therapy, Hamamatsu University School of Medicine
- 11) Fukushima Prefectural General Hygiene Institute

Keyword: RBC Irregular Antibody Crossmatch Guideline

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂2版）にあたって

平成 26(2014)年 12 月、赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドラインが大幅に改訂されました。今回の改訂は、抗 D 試薬の直後判定、間接抗グロブリン試験、反応増強剤、不規則抗体スクリーニングに用いる検査法、日本人に検出される不規則抗体などの内容が小改訂されました。特筆すべきは、分子標的治療薬等による抗グロブリン試験への影響の項目が追加されたことです。最近、造血器腫瘍を含む癌に対する様々な分子標的治療薬が導入されています。難治性多発性骨髄腫に用いられる抗 CD38 抗体（daratumumab）は、抗グロブリン試験で汎反応性の赤血球凝集きたすことがあり注意を要します。巻末に、新旧対照表が設けられ改訂内容が分かり易くなっています。この改訂 2 版は、赤血球型検査を行う全ての方々にとって、より有用なガイドラインとなることを確信しています。

平成 28(2016)年 10 月

日本輸血・細胞治療学会 理事長 室井一男

赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂2版）

1. 赤血球抗体の臨床的意義

1. 1. 臨床的に意義のある抗体とは、対応した抗原を有する赤血球を生体内で破壊し、副作用の原因となる赤血球抗体(以下、抗体)である。
1. 2. 規則抗体の抗 A、抗 B、抗 A,B は、いかなる場合でも、臨床的に意義のある抗体である。
1. 3. 臨床的に意義のある不規則抗体は、ほぼ例外なく、37℃反応相からの間接抗グロブリン試験で陽性となる。
1. 4. 緊急時、とくに大量輸血を必要とする患者では、救命のため、不規則抗体が存在していても輸血せざるを得ない場合もある。

2. 患者検体

2. 1. 赤血球系検査のための患者検体として、血清（凝固血）あるいは血漿（EDTA 血等）のどちらも使用できる。
2. 2. 輸血や妊娠など赤血球による免疫応答(1 次あるいは 2 次応答)の結果、抗体が産生される。しかしながら、輸血あるいは妊娠による免疫から抗体産生までの期間については予測できない。このことを考慮に入れて、不規則抗体スクリーニングや交差適合試験用の検体は採血されなければならない。
2. 3. 連日にわたって輸血を受けている患者では、少なくとも 3 日ごとに検査用検体を採血する。また、過去 3 カ月以内に輸血歴あるいは妊娠歴のある患者では、輸血予定日に先立つ 3 日以内を目安に患者から検査用検体を採血する。
2. 3. 1. 輸血前検査に使用できる検体の保管期間は、4℃で保管した場合、採血から 1 週間を限度とする。ただし、3 カ月以内に輸血歴や妊娠歴のない場合に限る。

- 2.3.2. 輸血後に発症する可能性のある溶血性副作用の原因調査のため、輸血後感染症対策の保管血漿（血清）とは別に、輸血施行日から少なくとも1週間は4℃に保管しておく。一般には、検体の提出日から2週間（14日間）冷蔵庫内に保管する。また、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（14日間）冷蔵庫内に保管する。

3. ABO 血液型検査

ABO 血液型および RhD 血液型検査は、不適合輸血を防ぐために輸血前に行われる重要な検査であり、

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

管理された試薬、方法および手順のもと正しい判定が行われなければならない。

3.1. 試薬

- 3.1.1. オモテ検査は抗 A および抗 B 試薬を使用し、ウラ検査は A₁ および B 赤血球試薬を使用する。
- 3.1.2. 抗 A および抗 B 試薬は、厚生労働省から製造販売承認を受けた体外診断用医薬品を用いる。
- 3.1.3. A₁ および B 赤血球試薬についても可能な限り市販試薬を使用し、自家調製試薬を用いる場合は十分な品質管理を行う。
- 3.1.4. 使用前に各種試薬が使用期限内であることを確認する。

3.2. 方法および手順

- 3.2.1. 検査においては、オモテ検査とウラ検査を実施する。オモテ検査とウラ検査を実施することは、双方の検査のチェック機能を有するだけではなく、偽陽性や偽陰性反応の影響を検出できる重要な役割を果たしている。
- 3.2.2. 新生児においては母親由来の移行抗体があることや、生後4カ月以内の乳児においては、血清中の抗 A および抗 B の産生が不十分であることから、必ずしもウラ検査を実施しなくてもよい。

3.3. 精度管理（D 抗原検査を含む）

血液型検査における陽性および陰性コントロールの使用例

- 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の有効性を確認する。
- 3.3.2. 全自動輸血検査装置を使用する場合は、メーカー指定のコントロール試薬キットで装置の管理を行い、検査の有効性を確認する。
- 3.3.3. コントロールに期待される結果が得られなかった場合は原因を追究する。
- 3.4. 同一患者および同一検体の二重チェック
- 3.4.1. 同一患者から採取された異なる時点での2検体で、二重チェックを行う必要がある。
- 3.4.2. 同一検体について異なる2人の検査者がそれぞれ独立に検査し、二重チェックを行い、照合確認するように努める。ただし、正しく管理された全自動輸血検査装置を使用する場合は、その結果を考慮してもよい。
- 3.4.3. 患者血液型の管理には、輸血管理システムなどのコンピューターを用いた検査結果登録・履歴照合が有効である。

3.5. 判定

- 3.5.1. オモテ検査とウラ検査の結果が一致している場合に血液型を判定できる。輸血を要する患者においては、3.4.に準じて血液型を確定する。
- 3.5.2. オモテ検査とウラ検査の結果が不一致となる場合は、その原因を精査する。
- 3.5.3. 輸血には患者と同型の輸血用血液製剤を用いるのが原則である。ただし、患者の血液型が確定できない状況で輸血が必要になった場合は、例外的に赤血球製剤はO型、血漿/血小板製剤はAB型を使用する。
- 3.5.4. 異常反応の主な原因
 - 3.5.4.1. オモテ検査で部分凝集が認められた場合は、患者情報の収集と追加検査等を行い、原因を追究する。異型輸血、造血幹細胞移植、血液疾患などによる抗原減弱、亜型の一部（A₃、B₃）、キメラ等が疑われる。
 - 3.5.4.2. 冷式自己抗体等の影響により偽陽性反応が見られる場合は、患者赤血球や血漿（血清）を予備加温した再検査が効果的である。また、ウラ検査において、抗Aおよび抗B以外の同種抗体による偽陽性反応が疑われる場合は、対応抗原陰性のA₁およびB型赤血球試薬を用いた再検査を検討する。
 - 3.5.4.3. 亜型は、抗Aまたは抗B試薬に対して非常に弱い反応あるいは陰性を示すことがあるため、場合によっては吸着解離試験等を実施して血液型を判定する。なお、輸血において、詳細な判定（A_x、B_m、cisABなど）は必ずしも必要ではない。37℃反応性（反応増強剤無添加-間接抗グロブリン試験で陽性）の不規則抗A₁または抗Bを保有する患者においては、O型の赤血球製剤を選択する。

4. RhD 血液型検査

4.1. 試薬

- 4.1.1. 抗D試薬は、厚生労働省から製造販売承認を受けた体外診断用医薬品を用いる。
- 4.1.2. 抗D試薬には、ポリクローナル抗体、IgGモノクローナル抗体、IgMモノクローナル抗体が単独のもの、あるいはこれらの抗体をブレンドしたものなど、組成の異なる数種類の試薬がある。何れの抗D試薬を用いてもよい。しかしIgMモノクローナル抗体が単独の試薬はD陰性確認試験に用いることができない。
- 4.1.3. Rhコントロール（陰性対照試薬）は使用する抗D試薬の添付文書で指定されたものを用いる。
- 4.1.4. 使用前に試薬が使用期限内であることを確認する。

4.2. 方法および手順

- 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。
- 4.3. 精度管理（3.3. ABO血液型検査の精度管理 参照）

4.4. 判定

4.4.1. 直後判定

- 4.4.1.1. Rhコントロールの直後判定が陰性であることを確認する。
- 4.4.1.2. 抗D試薬の直後判定が陽性の場合にはD陽性と判定する。ただし、最終判定は試薬の添付文書に

従う。なお、反応が弱い場合は異なる試薬で再検査するのが望ましい。また、異型輸血の可能性も考慮し、直近の輸血について調査する。

4.4.1.3. 抗D試薬の直後判定が陰性の場合は判定保留とし、引き続きD陰性確認試験を行う。ただし、D陰性確認試験は必須ではなく、この患者はD陰性と同等に取り扱い、輸血にはD陰性の輸血用血液製剤を用いる。

4.4.2. D陰性確認試験

4.4.2.1. Rhコントロールの判定が陰性であることを確認する。

4.4.2.2. Rhコントロールの判定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(4.4.3.参照)。

4.4.2.3. 抗D試薬の判定が陰性の場合はD陰性と判定する。

4.4.2.4. 抗D試薬の判定が陽性の場合(直後判定は陰性)はweak Dと判定する。

4.4.2.5. weak Dの患者にはD陰性の輸血用血液製剤を用いる。

4.4.2.6. partial Dと判明した患者の対応については、weak Dの患者と同様に扱う(4.4.2.5.参照)。

4.4.3. Rhコントロール

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。

5. 不規則抗体スクリーニング

5.1. 不規則抗体スクリーニングは、患者血漿(血清)と供血者赤血球間で行われる交差適合試験と比べ、検出の感度および信頼性の点で優れている。可能なかぎり、不規則抗体スクリーニングは交差適合試験に先立って実施すべきである。

5.1.1. あらかじめ不規則抗体スクリーニングを行っておくことで、不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、適合する輸血用血液製剤の準備が予定より遅れる見込みを臨床部門に知らせることができる。

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(*polyethylene glycol*: PEG)を試験管法に、また低イオン強度溶液(*low-ionic-strength solution*: 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分~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。

5.4. 不規則抗体スクリーニング赤血球

不規則抗体を検出する手段として、不規則抗体スクリーニング赤血球を用いた不規則抗体スクリーニングは、信頼性および感度において交差適合試験に比較し優れている。交差適合試験に用いられる供血者赤血球は、遺伝子型によって対応する赤血球型抗原量が異なる。たとえば、Jk^a 抗原に対してホモ接合体 (Jk^aJk^a) 赤血球は、ヘテロ接合体 (Jk^aJk^b) 赤血球に比べ、Jk^a 抗原量が多いことが知られている。よって、交差適合試験は、供血者赤血球の抗原性がヘテロ接合体であると低力価の抗体を検出できないことがあり（量的効果）、不適合を検出する方法として最適とは言えない。不規則抗体スクリーニング赤血球は以下の条件を満たさなければならない。

(1) 不規則抗体スクリーニング赤血球は、以下の赤血球型抗原が陽性である。

C, c, D, E, e, Di^a, Di^b, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, M, N, P1, Le^a, Le^b

(2) 少なくとも 2 本の不規則抗体スクリーニング赤血球を 1 組として用いる。これらの赤血球は混合して用いてはならない。

(3) 以下の抗原については、ホモ接合体の赤血球を含むことが望ましい。

C, c, E, e, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S, s

5.5. 不規則抗体スクリーニングに、自己対照あるいは直接抗グロブリン試験を含める必要はない。

5.6. 日本人に検出される不規則抗体は、特異性の推定が比較的容易な単一抗体（抗 E や抗 Le^a など）が多い。不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、不規則抗体同定の過渡的手段として陽性または陰性を呈したスクリーニング赤血球から‘可能性の高い抗体’、‘否定できない抗体’を推定する。ただし、引き続き抗体同定に進む場合には‘可能性の高い抗体’の推定を省略できる。

(1) ‘可能性の高い抗体’とは、陽性反応を呈した赤血球において、

i) 反応パターンが、抗原表のいずれか 1 つの特異性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）とする。

(2) ‘否定できない抗体’とは、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。ただし、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。

6. 不規則抗体の同定

6.1. 不規則抗体スクリーニングで陽性の場合、不規則抗体同定用のパネル赤血球を用いて不規則抗体

の特異性を決定し、臨床的意義について考慮する。

- 6.1.1. 5.6.に準じて‘可能性の高い抗体’を推定する。ただし、‘可能性の高い抗体’の推定が容易でない場合は、‘可能性の高い抗体’の推定を省略して‘否定できない抗体’の推定を行う。
- 6.1.2. 5.6.に準じて‘否定できない抗体’を推定する。消去法による‘否定できない抗体’の推定は、輸血を前提とした場合、原則として間接抗グロブリン試験の結果を用いて行う。ただし、オモテ・ウラ不一致の原因を検索する場合や、低温反応性抗体が間接抗グロブリン試験の反応に影響する場合においては、生理食塩液法での消去法が有益な場合がある。
- 6.2. 6.1.1.および 6.1.2.で推定した抗体特異性をもとに追加試験を実施し、その結果および患者情報などから総合的に評価して不規則抗体を同定する。
- 6.3. 不規則抗体がすでに同定されている患者については、新たに産生される可能性のある不規則抗体の有無について検査する。
- 6.4. 複数の抗体が混在する場合、1種類の不規則抗体同定用パネル赤血球では混在する不規則抗体を容易に同定できないことがある。このため、別の不規則抗体同定用パネル赤血球や臨床的意義のある抗原に対する抗体試薬を用意しておくことが望ましい。これにより共存する可能性のある抗体や、新たに産生される可能性のある不規則抗体を確認し易くなる。
- 6.5. 臨床的に意義のある抗体の混在を確認できない施設では、できるかぎり専門機関に相談する。
- 6.6. 不規則抗体スクリーニングで陽性となった方法で、パネル赤血球との反応をみる。この時、患者自身の赤血球を用いた自己対照について同時に検査する。
 - 6.6.1. 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。
 - 6.6.2. 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原に対する抗体の可能性が推測できる。
- 6.7. 対応する血液型抗原陽性の赤血球2～3種との反応が陽性、対応する血液型抗原陰性の赤血球2～3種との反応が陰性となることで、抗体の特異性が決定される。抗体の特異性の決定においては、抗体試薬を用いて患者の血液型抗原の有無も確認する必要がある。
- 6.8. 1種類の抗体が同定された場合、別に存在する臨床的に意義のある抗体の混在を見逃してはならない。同定された不規則抗体に対応する抗原が陰性で、かつ他の血液型抗原が陽性の赤血球を用いることで、複数抗体の存在が確認できる。
- 6.9. 酵素法や室温相(18～25℃)での生理食塩液法は、不規則抗体同定に有効な場合がある。Rh血液型に対する抗体などが間接抗グロブリン試験で弱く反応する場合や複数抗体の混在が疑われる場合では、とくに酵素法が有用である。
- 6.10. 低温反応性抗体によって、生理食塩液法のみならず反応増強剤を加えた間接抗グロブリン試験でも陽性になることがある。その場合は、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験を試みる。
- 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. 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°C, 60 分)

- 6.13. 遅発性溶血性貧血を予防するため、臨床的意義の高い抗体 (6.12. 参照) が同定された場合には、患者へ不規則抗体カードを発行するのが望ましい。

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 R_1R_1 (D+C+E-c-e+) の場合、 R_1R_1 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 R_1R_1 で自己抗体の特異性が抗 e の場合、 R_2R_2 (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 R_1R_1 で自己抗体（抗 e）と同種抗体（抗 E）を保有する場合、 R_1R_1 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°C 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°C 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。

患者のRh表現型	溶血所見	同種抗体	自己抗体の特異性	輸血赤血球の選択		
				通常	輸血効果なし	
(例) D+C+c-E-e+	無 (非AIHA)	無	考慮しない	不要	新たな同種抗体に 対する抗原陰性血	
		有:抗E		E-		
	有 (AIHA)	無	無 (汎反応性のみ)	D+C+c-E-e+		
		有:抗E		D+C+c-E-e+		
		無	有 (汎反応性+抗e)	D+C+c-E-e+		E+e-
		有:抗E		D+C+c-E-e+		

【輸血赤血球を選択する上での優先順位】

- ①同種抗体の有無 ⇒ 溶血性輸血副作用の防止
- ②Rh 表現型の一致/適合 ⇒ AIHA 患者の同種抗体産生防止
- ③自己抗体の特異性 ⇒ AIHA 患者の輸血効果

8. 交差適合試験

- 8.1. 原則として、ABO 血液型検査検体とは異なる時点で採血した輸血予定日に先立つ 3 日以内の検体を用いて実施する。
- 8.2. 主試験は供血者赤血球の適合性を確認するために実施する。とくに患者が臨床的意義のある抗体を保有する場合には必ず行う。
 - 8.2.1. 主試験は臨床的意義のある抗体を検出できる間接抗グロブリン試験を含む適正な方法で行う (5.2. 参照)。
 - 8.2.2. 間接抗グロブリン試験で用いる反応増強剤には PEG または LISS が望ましい。
 - 8.2.3. 主試験が間接抗グロブリン試験を含む方法で陽性となった場合は、必ず不規則抗体スクリーニングを実施する。
 - 8.2.3.1. 患者が臨床的意義のある不規則抗体を保有している、または過去に臨床的意義のある不規則抗体の保有歴がある場合は、以下の抗原陰性血を用いて交差適合試験を実施する。
 - (1) 抗体試薬を用いて抗原陰性を確認した輸血用血液製剤
 - (2) 日本赤十字社から供給される抗原陰性血
 - 8.2.3.2. 不規則抗体スクリーニング陰性で交差適合試験が陽性であった場合は、以下の可能性を考慮する。
 - (1) 低頻度抗原に対する抗体の存在
 - (2) 供血者赤血球の直接抗グロブリン試験陽性
 - (3) 患者と異なる ABO 血液型の輸血用血液製剤
- 8.3. 副試験は患者の血液型が 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省略できる。
 - 8.3.1. 壊死性腸炎や重症感染症を認める児においては、児の血液を用いて主・副試験を施行することが望ましい。
 - 8.4. 新生児あるいは生後 4 カ月以内の乳児においても、原則として ABO 同型の赤血球製剤を用いて主試験を行う。交差適合試験は児の血液を用いて行うが、新生児で採血が極めて困難な場合、以下

の条件を満たせば母親の血液で代用することが出来る。

- (1) 母児の ABO 血液型が同型の場合
- (2) 児が O 型もしくは母親が AB 型の場合

8. 4. 1. 主試験が陽性の場合には以下のことを考慮する。

- (1) O 型以外の赤血球を用いた場合は母親由来の IgG 型抗 A または抗 B の存在
- (2) 母親由来の不規則抗体の存在
- (3) まれに児が産生した不規則抗体の存在

8. 4. 1. 1. 母親由来の IgG 型抗 A または抗 B の存在を疑う場合は、O 型赤血球を用いて主試験を行う。

8. 4. 1. 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であった場合は、8. 2. 3. 2. の可能性を考慮する。

8. 5. コンピュータークロスマッチ

8. 5. 1. コンピュータークロスマッチとは、あらかじめ実施された下記の検査結果や過去の検査履歴に基づき、コンピューターを用いて適合性や安全性を確認する方法である。

- (1) ABO 血液型
- (2) RhD 血液型
- (3) 不規則抗体スクリーニング：陰性（3 日以内に採取された検体）
- (4) 抗体保有歴：なし

8. 5. 2. コンピューター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。

8. 5. 3. その際、以下の条件を必須とする。

- (1) 結果の不一致や輸血用血液製剤の選択の誤りを警告できること。
- (2) 患者の血液型が 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こと。
- (3) 赤血球製剤の血液型が再確認されていること。
- (4) 新生児および 4 カ月以内の乳児においてコンピュータークロスマッチは禁忌である。

9. その他

9. 1. 分子標的治療薬等による抗グロブリン試験への影響

9. 1. 1. 難治性骨髄腫に対する治療薬、抗 CD38 単クローン性抗体（多発性骨髄腫に対して、治験中で近く認可が予想される薬剤として *daratumumab* や *isatuximab* 等がある）を投与された患者において、不規則抗体検査や交差適合試験の間接抗グロブリン試験で汎反応性の凝集を認める場合がある。

9. 1. 2. 異常反応を認めた場合は、0. 2mol/L DTT 処理したスクリーニング赤血球やドナー赤血球を用いて、それぞれ不規則抗体検査や交差適合試験を再検査する。

9. 1. 3. ただし、DTT は赤血球膜上の Ke11 血液型抗原などを変性・破壊するため、抗 K などの抗体を検出できないことに注意する。

氏名	所属	COI 開示
石丸 健	日本赤十字社血液事業本部	無し
内川 誠	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター	無し
○奥田 誠	東邦大学医療センター大森病院	無し
梶原道子	東京医科歯科大学医学部附属病院	無し
北澤淳一	青森県立中央病院	無し
国分寺晃	広島国際大学	無し
小林信昌	東海大学医学部付属病院	無し
小山典久	豊橋市民病院	無し
高橋智哉	吉田学園医療歯科専門学校	無し
竹下明裕	浜松医科大学	奨励寄付金 (ファイザー製薬)
安田広康	福島県立総合衛生学院	無し

○委員長

赤血球型検査 (赤血球系検査) ガイドライン (改訂 2 版) 新旧対照表

旧項番号	(旧) 内容	新項番号	(新) 内容
4. 4. 1. 2.	抗D 試薬の直後判定が陽性の場合にD 陽性と判定する。ただし、最終判定は試薬の添付文書に従う。	4. 4. 1. 2.	抗D試薬の直後判定が陽性の場合にD陽性と判定する。ただし、最終判定は試薬の添付文書に従う。なお、反応が弱い場合は異なる試薬で再検査するのが望ましい。また、異型輸血の可能性も考慮し、直近の輸血について調査する。
5. 2.	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。試験管、マイクロプレート、固相マイクロプレート、マイクロカラムを用いて行うことができる。試験管法の反応増強剤として、低イオン強度溶液 (low-ionic-strength solution: LISS)、ポリエチレングリコール液 (polyethylene glycol: PEG)などを加えて反応時間を10分～15分に短縮できる。反応増強剤を加えない場合には、60分間 (45分～90分間) の反応時間が必要である。	5. 2.	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。

<p>5.2.1.</p>	<p>間接抗グロブリン試験により、臨床的に意義のある不規則抗体のほとんどが検出できることから、不規則抗体スクリーニングには間接抗グロブリン試験を必須とし、間接抗グロブリン試験単独でも不規則抗体スクリーニングを行うことができる。ただし、以下の条件を考慮に入れる。</p> <p>(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。</p> <p>(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。</p> <p>(3)定めた手順に従った時、既知の臨床的意義のある抗体が検出されることを確認する。</p>	<p>5.2.1.</p>	<p>反応増強剤としてポリエチレングリコール液 (polyethylene glycol : PEG) を試験管法に、また低イオン強度溶液 (low-ionic-strength solution : 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分～15分に短縮し、検出感度を上げることができる。</p>
		<p>5.2.2.</p>	<p>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。</p> <p>(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。</p> <p>(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。</p> <p>(3)定めた手順に従った時、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。</p> <p>(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。</p>

5. 3.	<p>その他の方法</p> <p>酵素法、ポリブレン法、アルブミン法、生理食塩液法を不規則抗体スクリーニングに用いることができるが、検出できる抗体の特異性は限られる。これらの方法は、間接抗グロブリン試験と組み合わせ、補助的に使用すべきである。</p>	5. 3.	<p>その他の方法</p> <p>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。</p>
5. 6.	<p>日本人に検出される不規則抗体は、特異性の推定が比較的容易な単一抗体（抗E や抗Le^a など）が多い。不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、陽性または陰性を呈したスクリーニング赤血球から‘可能性の高い抗体’、‘否定できない抗体’を推定する。ただし、引き続き抗体同定に進む場合には‘可能性の高い抗体’の推定を省略できる。</p> <p>(1) ‘可能性の高い抗体’とは、陽性反応を呈した赤血球において、</p> <p>i) 反応パターンが、抗原表のいずれか1つの特異性と完全に一致する抗体（単一抗体）</p> <p>ii) 反応パターンと反応強度が抗原表の特異性の組み合わせと完全に一致する抗体（複数抗体）</p> <p>iii) 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）とする。</p>	5. 6.	<p>日本人に検出される不規則抗体は、特異性の推定が比較的容易な単一抗体（抗Eや抗Le^aなど）が多い。不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、不規則抗体同定の過渡的手段として陽性または陰性を呈したスクリーニング赤血球から‘可能性の高い抗体’、‘否定できない抗体’を推定する。ただし、引き続き抗体同定に進む場合には‘可能性の高い抗体’の推定を省略できる。</p> <p>(1) ‘可能性の高い抗体’とは、陽性反応を呈した赤血球において、</p> <p>i) 反応パターンが、抗原表のいずれか1つの特異性と完全に一致する抗体（単一抗体）</p> <p>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）とする。</p>
6. 1. 1.	<p>5. 6. に準じて‘可能性の高い抗体’を推定する。ただし、‘可能性の高い抗体’の推定が容易でない場合は‘否定できない抗体’の推定を先行して行ってもよい。抗体同定における‘可能性の高い抗体’は、‘否定できない抗体’および追加試験、追加パネルの結果および患者情報などを考慮し、総合的に評価して確定する。</p>	6. 1. 1.	<p>5. 6. に準じて‘可能性の高い抗体’を推定する。ただし、‘可能性の高い抗体’の推定が容易でない場合は、‘可能性の高い抗体’の推定を省略して‘否定できない抗体’の推定を行う。</p>

		6.1.2.	(追加) 5.6. に準じて ‘否定できない抗体’ を推定する。消去法による ‘否定できない抗体’ の推定は、輸血を前提とした場合、原則として間接抗グロブリン試験の結果を用いて行う。ただし、オモテ・ウラ不一致の原因を検索する場合や、低温反応性抗体が間接抗グロブリン試験の反応に影響する場合には、生理食塩液法での消去法が有益な場合がある
6.2.	5.6. に準じて ‘否定できない抗体’ を推定する。消去法による ‘否定できない抗体’ の推定は、輸血を前提とした場合、原則として間接抗グロブリン試験の結果を用いて行う。ただし、オモテ・ウラ不一致の原因を検索する場合や、低温反応性抗体が間接抗グロブリン試験の反応に影響する場合には、生理食塩液法での消去法が有益な場合がある。	6.2.	6.1.1. および6.1.2. で推定した抗体特異性をもとに追加試験を実施し、その結果および患者情報などから総合的に評価して不規則抗体を同定する。
6.9.	酵素法や室温相(18~25℃)での生理食塩液法は、不規則抗体同定に有効である場合がある。Rh血液型に対する抗体などが間接抗グロブリン試験で弱く反応する場合や、複数抗体の混在が疑われる症例では、とくに有用である。一部の低温反応性抗体は、低温で補体を結合する場合がある。このような症例について間接抗グロブリン試験で検査する際、多特異的抗グロブリン試薬の代わりに抗IgG 試薬を使用すると、IgG型の不規則抗体を確認し易くなる。	6.9.	酵素法や室温相(18~25℃)での生理食塩液法は、不規則抗体同定に有効な場合がある。Rh血液型に対する抗体などが間接抗グロブリン試験で弱く反応する場合や複数抗体の混在が疑われる場合には、とくに酵素法が有用である。
6.10.	酵素法のみで検出される抗体の臨床的意義は低いと考えられている。酵素法のみで不規則抗体が検出され、特異性が認められた場合、対応する血液型抗原がホモ接合体の赤血球を用いて、間接抗グロブリン試験で再検査する。間接抗グロブリン試験の結果が陰性で、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	6.10.	6.11. より変更 低温反応性抗体によって、生理食塩液法のみならず反応増強剤を加えた間接抗グロブリン試験でも陽性になることがある。その場合は、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験を試みる。

	陰性血の選択は不要である。		
6. 11.	低温反応性抗体によって、生理食塩液法のみならず反応増強剤を加えた間接抗グロブリン試験でも陽性になることがある。その場合は、反応増強剤無添加の間接抗グロブリン試験を試みる。	6. 11.	変更 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。
		7. 3. 2.	表を追加
		9.	(追加)
		9. 1.	(追加) 分子標的治療薬等による抗グロブリン試験への影響
		9. 1. 1.	(追加) 難治性骨髄腫患者に対する治療薬(抗CD38, daratumumab) は、投与後に不規則抗体検査や交差適合試験の抗グロブリン試験において汎反応性の凝集を認める場合がある。
		9. 1. 2.	異常反応を認めた場合は、0. 2M DTT処理したスクリーニング赤血球やドナー赤血球を用いて、それぞれ不規則抗体検査や交差適合試験を再検査する。
		9. 1. 3.	ただし、DTTは赤血球膜上のKell血液型抗原を変性・破壊するため、抗Kなどの抗体を検出できないことに注意する。