



- 日当直のための血液型検査について
- 不規則抗体スクリーニング検査について
- 緊急輸血検査について

- ・ 日当直のための血液型検査について

NHO三重中央医療センター 羽根頼子

- ・ 不規則抗体スクリーニング検査について

鈴鹿回生病院 堤 泰夫

- ・ 緊急輸血検査について

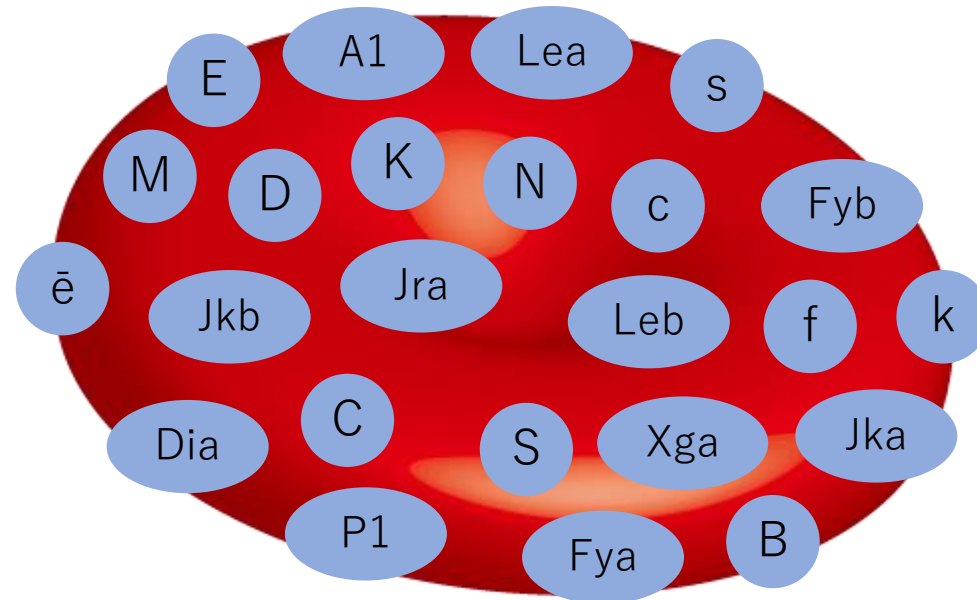
桑名市総合医療センター 大矢知 崇浩

日当直のための 血液型検査について

血液型とは

赤血球膜の表面にある抗原の型

※2019年時点で国際輸血学会に認定されている
血液型抗原は326抗原



ABO式血液型

- 規則性抗体を持つ唯一の血液型
 - ※血清中に自己の保有していない抗原に対する抗体が規則性に存在している
- 血液型不適合輸血により重篤な血管内溶血を起こすため、安全な輸血を行ううえで最も重要

▶ オモテ検査

赤血球膜上の A、B 抗原を検索

▶ ウラ検査

血漿（血清）中の抗 A、抗 B を検索

オモテ検査			ウラ検査			判定
抗A	抗B	結果	A ₁ 赤血球	B赤血球	結果	
+	0	A型	0	+	A型	A型
0	+	B型	+	0	B型	B型
0	0	O型	+	+	O型	O型
+	+	AB型	0	0	AB型	AB型

ABO式血液型の判定について

- オモテ検査とウラ検査の照合

【一致】

血液型を判定することができる

【不一致】

追加検査を実施し、原因を精査する必要がある

RhD血液型

- RhD抗原は免疫原性が強い

※RhD陰性の人が輸血や妊娠でRhD陽性血球に免疫されると、約50%に抗Dが産生されると言われている

- ABO式血液型に次ぎ、重要

RhD血液型の判定について

- ▶ 赤血球膜上のRhD抗原の有無を検索
- ▶ 判定保留を確定するためには、直後判定後、引き続きD陰性確認試験が必要

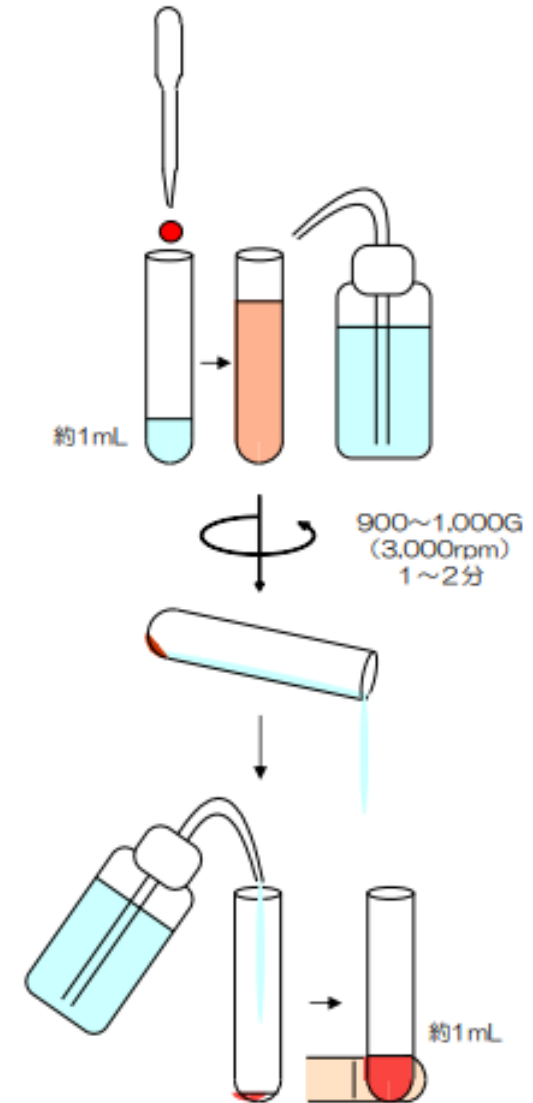
直後判定			D陰性確認試験		
抗D試薬	Rhコントロール	判定	抗D試薬	Rhコントロール	判定
+	0	D陽性	不要		
0	0	判定保留 ^{※1}	0	0	D陰性
			+	0	weak D
+	+	判定保留 ^{※2}			

- ▶ 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

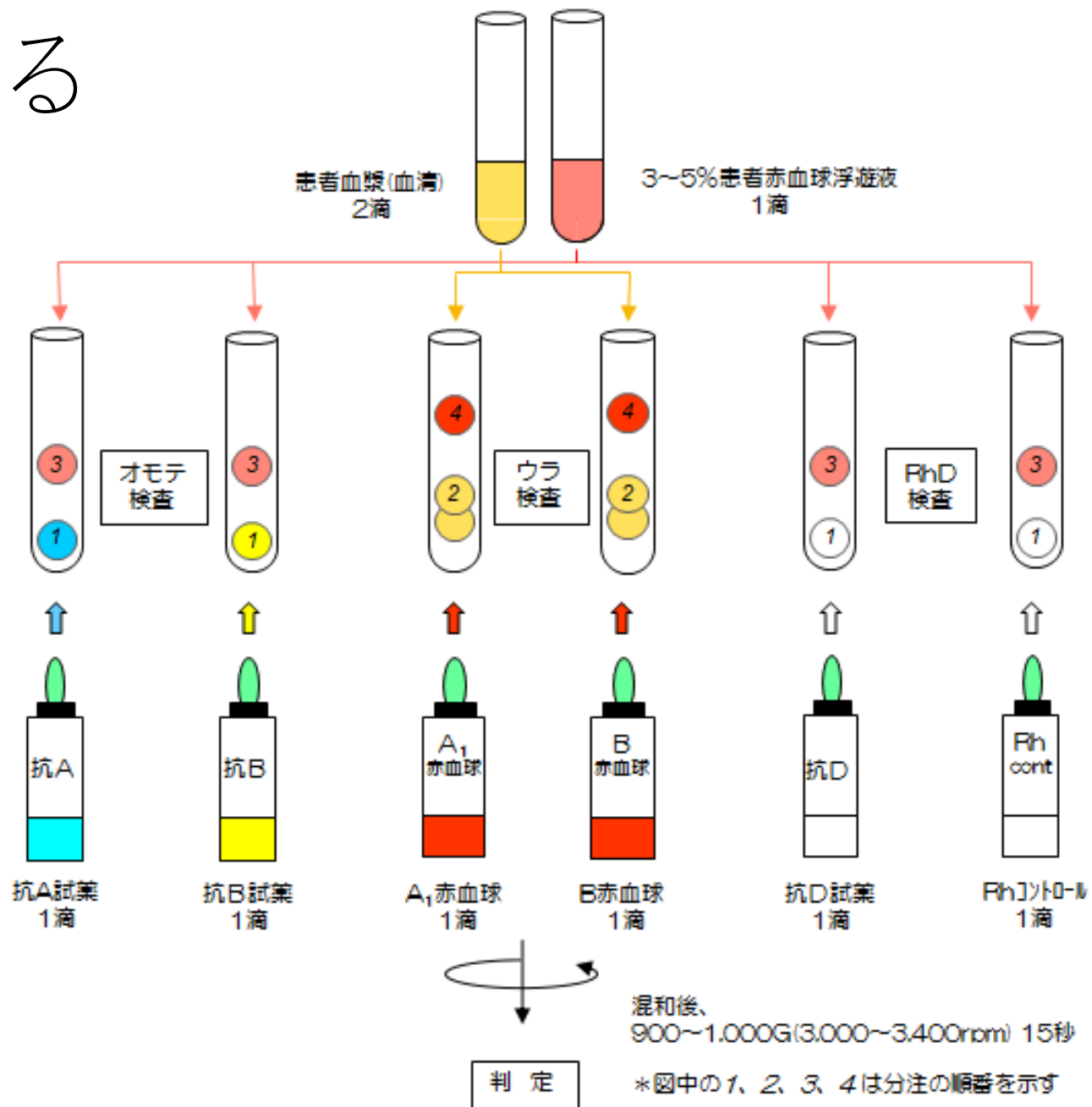
まずは、
正しい検査方法を確認しましょ
う

3～5%赤血球浮遊液の作製法

1. 検体は、多本架遠心機で1200G(3000rpm)5分遠心し、患者名を明記した試験管に血漿(血清)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、スポイトで赤血球沈渣1滴(約50 μ l)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900～1000G(3000～3400rpm)で1～2分遠心する。
5. 赤血球沈渣が流れ出ないように試験管を傾け、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%赤血球浮遊液に調整する。



試験管法による 血液型検査

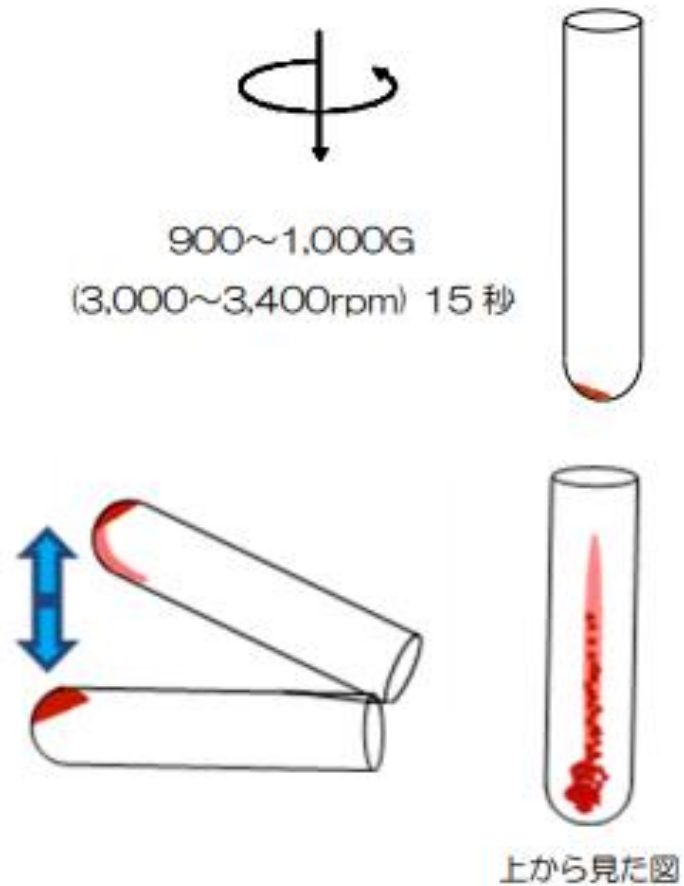


試験管法操作手順

1. 患者検体は1200G(3000rpm)5分遠心し、患者名を明記した試験管に血漿(血清)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)の試験管にそれぞれの試薬を各1滴滴下する。
6. ウラ検査用試験管に血漿(血清)を2滴ずつ滴下する。
7. 患者血漿(血清)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RhD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赤血球の試薬を各1滴滴下する。
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900～1000G(3000～3400rpm)15秒遠心する。
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。

凝集の見方

～凝集と背景の色調観察～



1. 判定用遠心機で試験管を900～1000G(3000～3400rpm)15秒遠心する。
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. 左図のようにセルボタンを上にして沈渣を流し、試験管を傾けながら凝集の有無を観察する。
4. セルボタン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. セルボタンがほぐれ、均一に再浮遊するまで3.4.を繰り返す。

凝集の見方～凝集反応の分類～

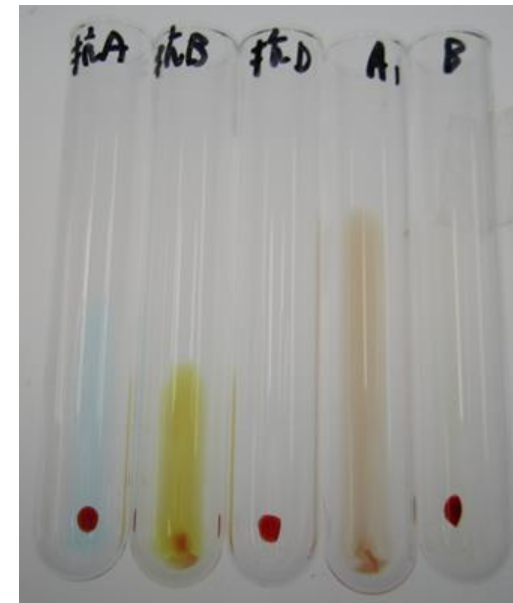
特 徴	凝 集 像 [※]	分 類	スコア
1コの大きな凝集塊 背景透明		4+ ++++	12
2～3コの大きな凝集塊 背景透明		3+ +++	10
数多くの中程度の凝集塊 背景透明		2+ ++	8
非常に細かい凝集 背景赤く濁る		1+ +	5
ごくわずかな微細凝集 背景赤く濁る		W+ ±	2
凝集見られず		0 -	0
溶血		溶血 H	-

オーソ社からの提供
無断転載禁止

検査実施のポイント(1)

- 試験管の並べ方・記名の仕方

- 試験管は記録用紙の順番と同様に立てる
- また、カラムと同様の順番で並べる
- 患者氏名(識別番号)や試薬名などが見えるよう管口をそろえて準備する



検査実施のポイント(2)

- 検体、試薬の分注

→色の薄いものから

→スポイトの先端が試験管に触れないよう
注意し、管底に直接滴下する

→次のステップに移る前に目視確認する

再検査基準

・オモテ検査

- 部分凝集やオモテ・ウラ不一致なし
：3+以下
- 部分凝集またはオモテ・ウラ不一致あり
：反応強度にかかわらず

・ウラ検査

- 1+程度(目安)
- オモテ・ウラ不一致あり　：反応強度にかかわらず
- 最終的に再検・精査を行うかどうかの判断は弱反応を示す要因などを総合的に考慮する必要がある

予期せぬ反応が起こったら・・・

- 再検査する
- 技術的な誤りがないか確認する
- 記載ミスがないか確認する

技術的な誤り

- 試薬の劣化・汚染
- 検体の取り違い
(採血間違い、検査時の検体の取り間違い)
- 赤血球濃度の誤り
- 赤血球や試薬の混合比が不適當
- 遠心力の強弱や遠心時間の誤り
- 溶血反応の見逃し
- フィブリン析出による偽陽性
- 記録・判定の誤り

オモテウラ不一致になる原因

- 赤血球に原因がある場合
- 血漿（血清）に原因がある場合

赤血球に原因がある場合

- 亜型の場合
- 疾患による抗原量の一時的な減弱
- 後天性Bを示す場合
- 高力価に自己抗体が感作されている場合
- 汎凝集性(polyagglutination)を示す場合
- キメラ・モザイクによるもの
- 異型輸血によるもの
- 造血幹細胞異型移植後
- 被検血球の濃度調整不良

血漿（血清）に原因がある場合

- 不規則同種抗体を保有する場合
- 抗A₁やある種の抗Bの存在
- 連銭形成によるもの
- 寒冷凝集素を高力価に含む場合
- 不活化不良による溶血反応
- 母親由来抗A、抗Bによるもの
- 抗A、抗B抗体価の低下や欠損
- 高分子血漿増量剤、造影剤の使用
- 型物質の異常増加
- 輸血により受身に抗体を獲得した場合

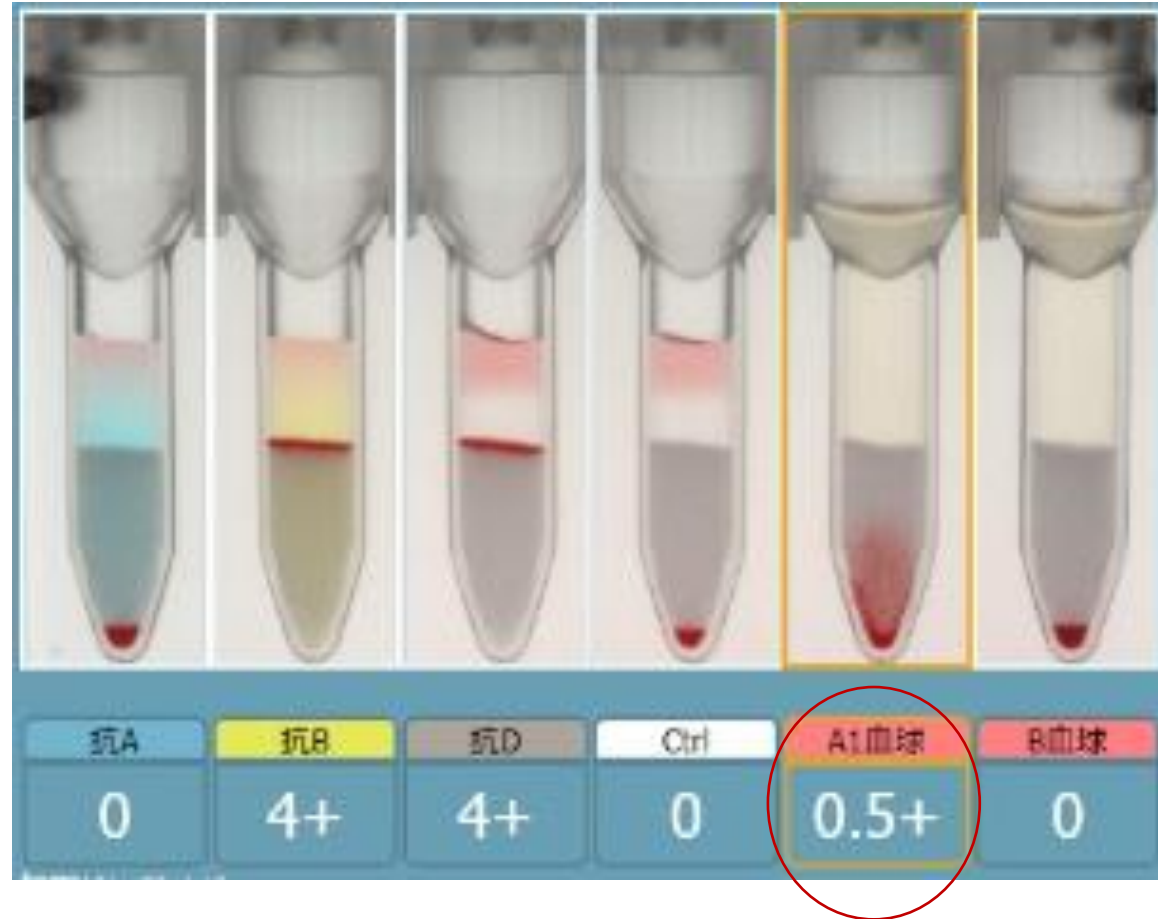
予期せぬ反応

日本臨床検査技師会

JAMT技術教本シリーズ輸血・移植検査技術教本

	異常反応	考えられる成因または病態
オモテ検査	反応が無い、弱い	亜型
		疾患による一時的な抗原量の低下
		型物質の異常増加による試薬中の抗体中和
	部分凝集	亜型
		キメラ・モザイク
		異型輸血・造血幹細胞移植後
	異常な凝集が認められる	汎凝集反応
		後天性B(acquired B)
		寒冷凝集素による感作
ウラ検査	反応が無い、弱い	新生児・高齢者
		低・無 γ グロブリン血症
	異常な凝集が認められる	亜型(A3、Axで抗A ₁ を保有している場合など)
		冷式不規則抗体
		寒冷凝集素症
		連鎖形成

事例①



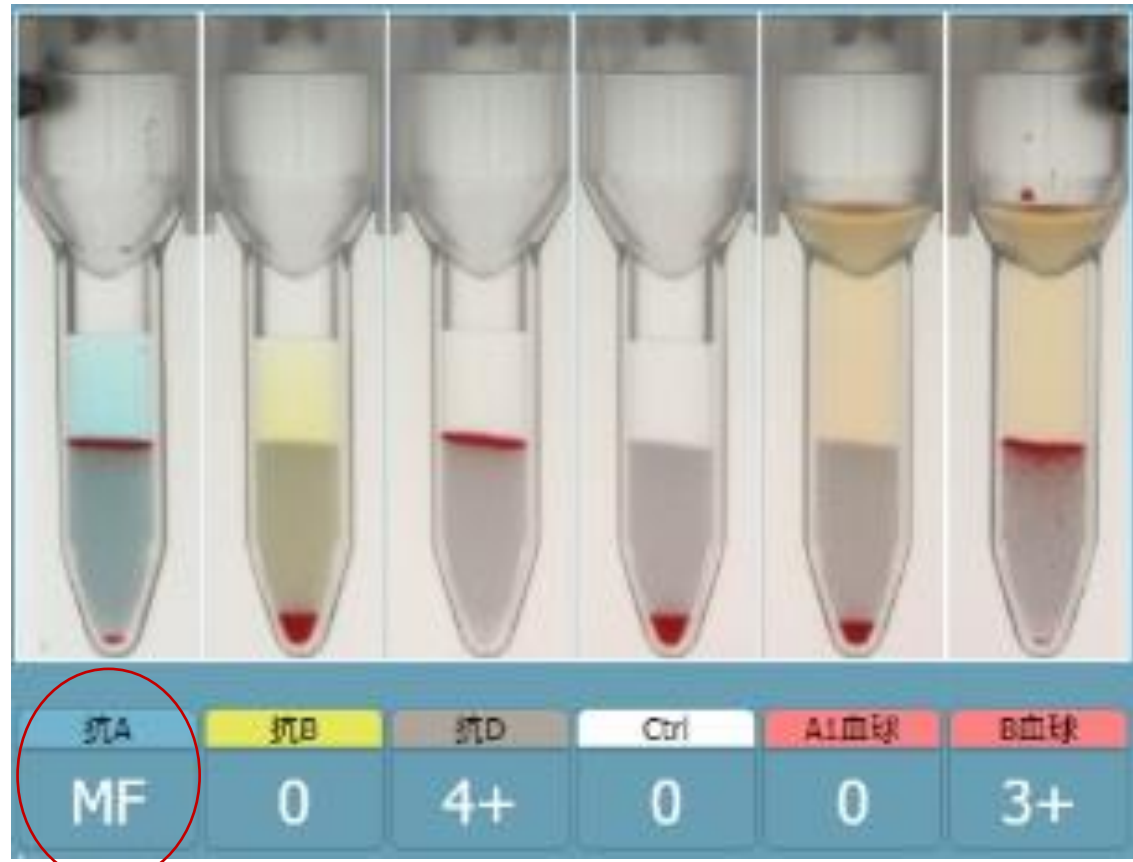
- ▶ ウラ検査の凝集が弱い
→ 抗A抗体価の低下や欠損？

事例①～対処法～

- 血漿(血清)の滴下数を3滴または4滴に増量する
- 反応時間を10～15分に延長する
- 患者情報を収集する
 - 無/低 γ グロブリン血症など
 - 新生児または高齡者

高齡のため抗体価
の低下であった

事例②



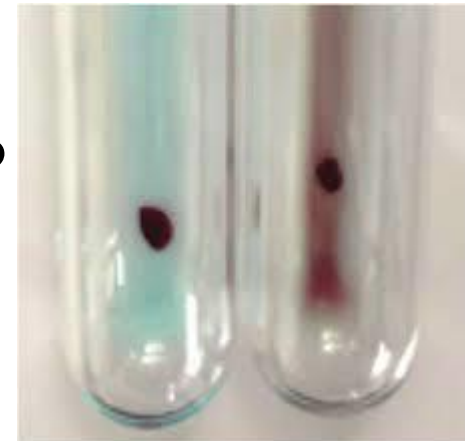
▶ 部分凝集がある

→ 亜型？

→ キメラ・モザイク？

→ 異型輸血・造血幹細胞異型輸血後？

→ 疾患による抗原減弱？

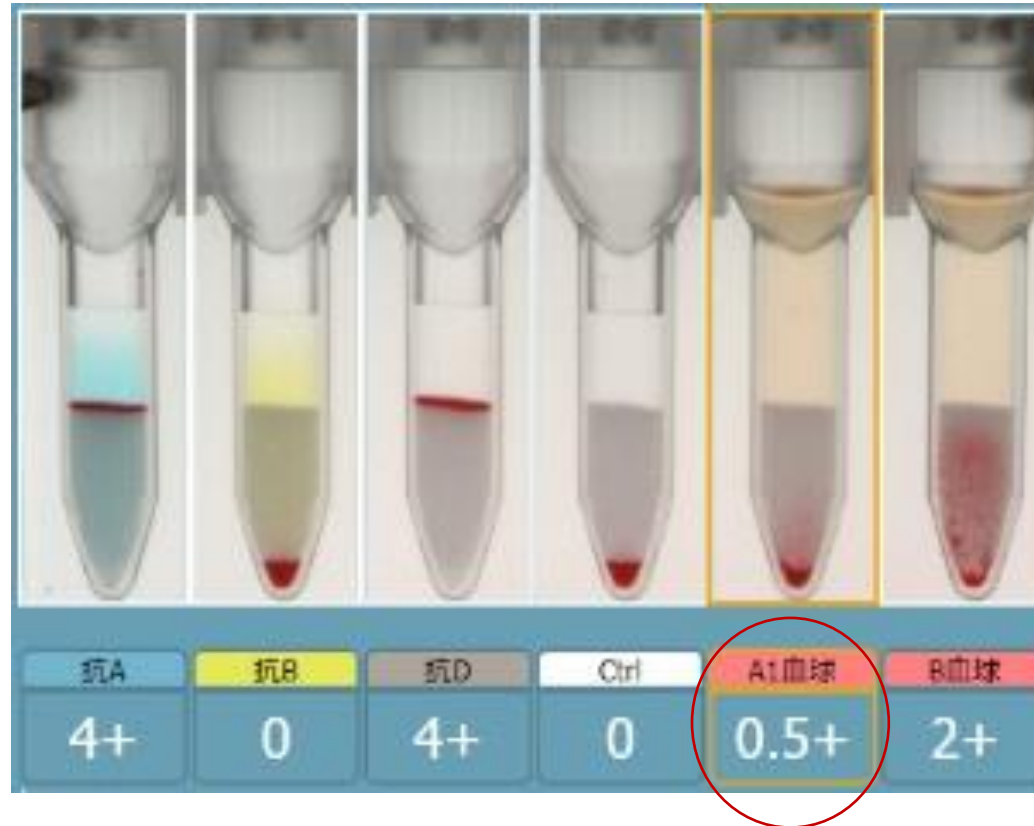


事例②～対処法～

- 患者情報の収集と精査が必要
 - 基礎疾患名、移植歴、**輸血歴**
血液型カードの有無

前医にて緊急輸血（O型
RBC）実施があった

事例③



- ▶ ウラ検査で予期せぬ凝集がある
→ 低温反応性不規則抗体？
→ 寒冷凝集反応？
→ 連鎖形成？

事例③～対処法～

- 検査データを確認する(TP、免疫グロブリン量)
- 顕微鏡で確認する
- ウラ検査37°C10～15分恒温槽で予備加温後、遠心判定を実施する
- 不規則抗体スクリーニングおよび同定

低温反応性不規則抗体
(抗M)が同定された

不規則抗体スクリーニング 検査について

～不規則抗体スクリーニングについて～

症例

不規則抗体スクリーニング



判定（カラム法：旧検査機器）

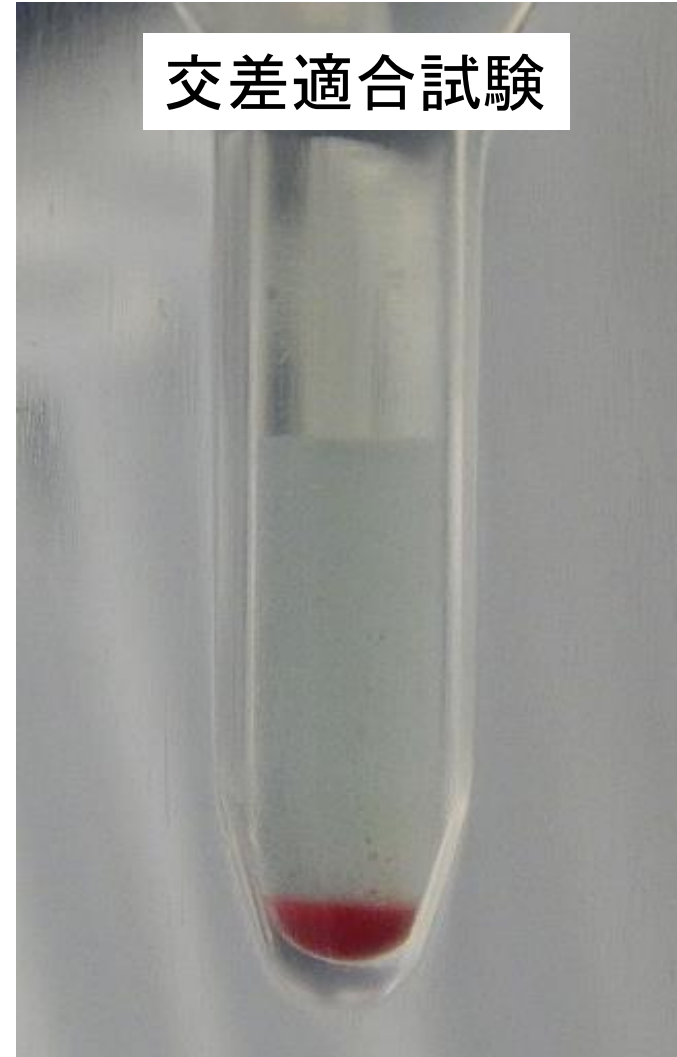
I	II	III	Dia	VP	VIP
—	1+	—	—	—	4+

不規則抗体スクリーニング：陽性

交差適合試験：陰性 目視：w+？

輸血は、可能なのか？？

交差適合試験



判定（カラム法：旧検査機器）

（一）陰性

今回のポイント

輸血歴等の患者情報

消去法

量的効果

血液型抗体の反応態度

採血時期（1次応答:2次応答）

患者情報

80代男性

血液疾患にて外来通院中

肺炎にて入院

出血についてのカルテ記載なし

その他の疾患として

慢性腎不全

慢性心不全

高血圧 等

最終輸血 約8か月前

約8カ月の間にRBC2単位を8回にわたり輸血

WBC $2.3 \times 10^3 \mu\text{l}$

RBC $1.9 \times 10^6 \mu\text{l}$

Hb **6.1g/dl**

Hct 17.5%

MCV 91.4

MCH 31.6

MCHC 34.6

Plt 19×10^3

CRE 3.24mg/dl

CRP 24.24mg/dl

最終輸血時に行った

不規則抗体スクリーニング 陰性

主治医に不規則抗体が検出されたことを報告し、できれば本日中に輸血したいとの返答

消去法

検査結果を抗原表に記入しました

LISS-クームス法

血球	Rh-hr					Lewis		Duffy		Kidd		MNS				Special	AHG
	D	C	E	c	e	Lea	Leb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Antigen	結果
I	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+		0
II	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+		1+
III	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0		0
Dia	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	Di(a+)	0



×をつけ消去する

ヘテロ接合体抗原の+には『/』（保留）を付記する（量的効果）

酵素法（パパイン）



酵素による減弱・破壊

血球	Rh-hr					Lewis		Duffy		Kidd		MNS				Special	酵素法
	D	C	E	c	e	Lea	Leb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Antigen	結果
V	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+		0
VI	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+		4+

量的効果

量的効果が認められている血液型抗原において、ホモ接合体の赤血球はヘテロ接合体よりも抗原決定基数が約2倍と多くなっている。

そのため、結合できる抗体数もホモ接合体の方が多くなり、結果として凝集反応もホモ接合体の赤血球の方が強く起こる。 Rh Kidd Duffy

MNS

消去法では、ヘテロ接合体抗原の+には『/』（保留）を付記する。

Kidd	
Jka	Jkb
0	*

ホモ接合体

Kidd	
Jka	Jkb
+	+

ヘテロ接合体

* 数本のパネル赤血球で強弱の差ができる

* 低力価であると陰性となることもある

（交差適合試験では、検出不能となる）

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。

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。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。

複数の抗体特異性が存在する場合には、追加試験や追加パネルによる検査を行って抗体特異性を絞り込む。

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。

LISS-クームス法

消去法を行いました

	Rh-hr					Lewis		Duffy		Kidd		MNS				Special	AHG
血球	D	C	E	c	e	Lea	Leb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Antigen	結果
I	+	*	0	0	*	0	*	*	0	0	*	0	*	0	*		0
II	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+		1+
III	0	0	0	*	*	0	+	+	+	*	0	*	0	*	0		0
Dia	0	0	0	*	*	0	*	*	0	*	0	*	0	*	0	Dia(+)	0

酵素法(パピイン)

	Rh-hr					Lewis		Duffy		Kidd		MNS				Special	酵素法
血球	D	C	E	c	e	Lea	Leb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	M	N	S	s	Antigen	結果
V	*	*	0	0	*	0	*	+	+	0	*	0	+	0	+		0
VI	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+		4+

可能性の高い抗体 省略

否定できない抗体 抗E 抗Lea

引き続き同定検査に進みました

院内在庫を検索してみます

血液型抗体の反応態度

日本臨床検査技師会

JAMT技術教本シリーズ輸血・移植検査技術教本

血液型	抗体	反応至適温度	検出頻度			臨床的意義	日本人適合率
			生食法	クームス法	酵素法		
Rh	抗D	37℃	△	◎	◎	あり	0.5
	抗C	37℃	△	◎	◎	あり	10.9
	抗E	37℃	△	◎	◎	あり	50.6
	抗c	37℃	△	◎	◎	あり	44
	抗e	37℃	△	◎	◎	あり	8.6
Duffy	抗Fya	37℃		◎		あり	1.1
	抗Fyb	37℃		◎	△	あり	80.4
Kidd	抗Jka	37℃		◎	△	あり	27.2
	抗Jkb	37℃		◎	△	あり	22.4
Lewis	抗Lea	5～20℃	◎	△	○	あり	83
	抗Leb	5～20℃	◎	△	○	なし	27
MNSs	抗M	5～22℃	◎	△		あり	22.3
	抗N	5～23℃	◎	△		なし	28.1
	抗S	5～37℃	△	◎	△	あり	88.7
	抗s	37℃		◎		あり	0.5
Diego	抗Dia	37℃		◎	△	あり	90.8

反応条件により検出感度が異なります

同定検査に用いる方法を考えます

血球	Rh-hr				Lewis			Duffy		Kidd		MNS				Special Antigen	Sal	ENZ	PEG IAT	IgG感作赤血球
	D	C	c	E	L _s	Le _a	Le _b	Fy _a	Fy _b	Jk _a	Jk _b	M	N	S	s					
1	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0		0	0	0	+
2	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+		0	0	0	+
3	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+		0	w+	w+	NT
4	+	0	+	0	+	0	+	+	0	/	/	+	+	0	+		0	0	0	+
5	0	/	/	0	+	0	+	0	+	/	/	+	0	0	+		0	0	0	+
6	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0		0	1+	w+	NT
7	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+		0	0	0	+
8	0	0	+	0	+	0	0	0	+	/	/	+	+	0	+		0	0	0	+
9	0	0	+	0	+	+	0	/	/	0	+	+	0	0	+		0	0	0	+
10	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	Di(a+)	0	w+	w+	NT
11	+	+	0	0	+	+	0	+	0	/	/	/	+	0	+		0	0	0	+
自己	+	+	0	0	+												0	0	0	+

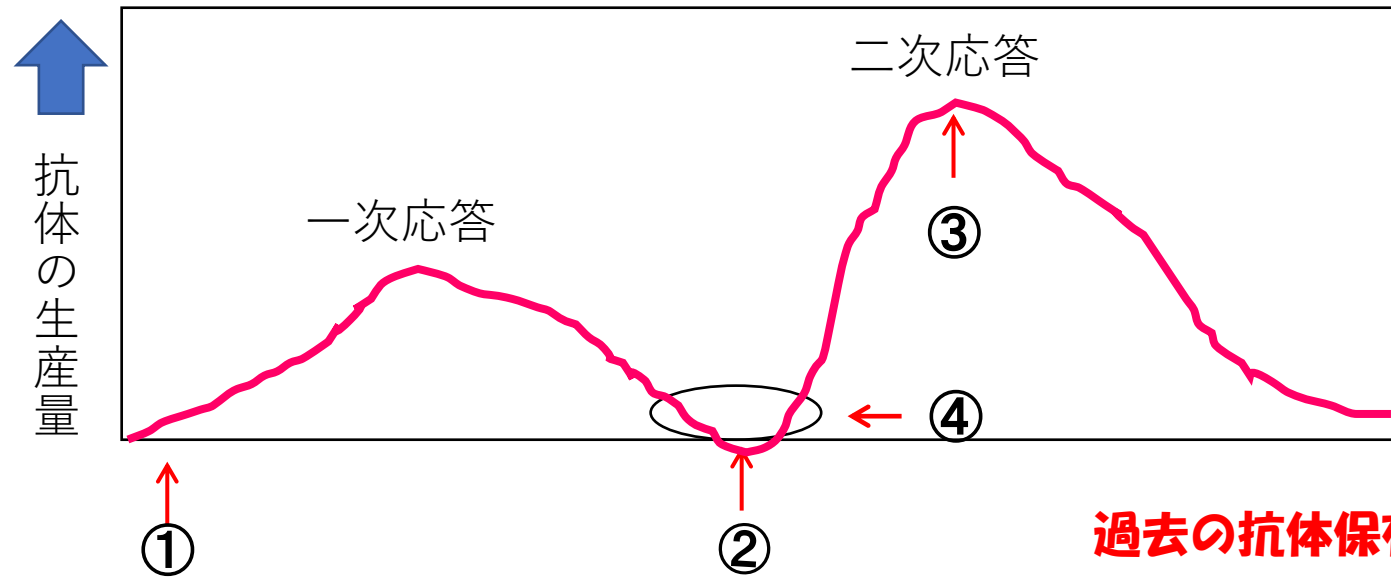
患者Rh血液型 DCCee

* 生食法・酵素(ブロメリン)法を行った

可能性の高い抗体 抗E

当症例では
量的効果は確認できず...

否定できない抗体 抗Dia スクリーニングで消去



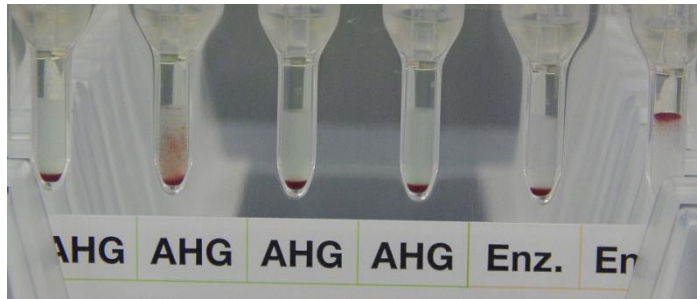
過去の抗体保有歴が重要

- ① 不規則抗体：陰性 交差試験：陰性 一次免疫応答により溶血反応
- ② 不規則抗体：陰性 交差試験：陰性 検出感度以下の場合あり
二次免疫応答に移行し、溶血反応
- ③ 不規則抗体：陽性 交差試験：陽性 輸血不可 血管外溶血
- ④ 抗体価の低下 不規則抗体検体の感度が低い時期：見逃しが起こる
輸血後は、新しい採血を用い検査する（抗体の立ち上がりで検出）
予想外のHb値の低下・Bilの上昇等→不規則抗体の検査を考慮

注意 不規則抗体：陽性 交差試験：陰性 量的効果の可能性あり

過去の抗体保有歴が重要 検査陰性でも抗原陰性血を選択

まとめ



← 製剤Rh型 DCcEe

患者Rh血液型 DCCee

E抗原陰性を用い

交差試験陰性を確認後

RBC2単位にて輸血施行

* 消去法 可能性の高い抗体 抗E

* 輸血歴等 あり 約8か月前（2単位ずつ8回）

最終輸血時に行った、不規則抗体スクリーニング 陰性

* 血液型抗体の反応態度 不規則抗体検査にて酵素法・生食法を行った

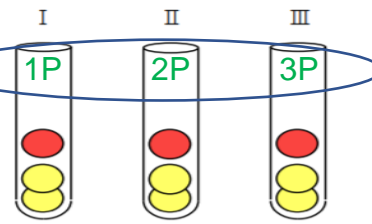
* 量的効果 カラム法：不規則抗体スクリーニングと交差適合試験との反応

にて、

凝集の強さに差が見られ量的効果と思われる

* 採血時期 輸血当日 （1次応答：2次応答） 1次免疫応答と推測

試薬名・患者名を記入



検体血漿(血清)から赤血球試薬は混和して管底に滴下

患者血漿(血清) 2滴
3~5%スクリーニング赤血球 1滴
(1本はDi⁺陽性赤血球を含む)

次の過程に進む前に必ず混和必ず目視確認

900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒

判定

PEG または LISS液 2滴

洗浄時の生食液量 (8分目)
多い飛び散り・少ないと洗浄効果不足

反応増強剤無添加*1

37°C 10~15分間

37°C 60分間 (時々よく攪拌する)

生理食塩液で3~4回洗浄 (最終洗浄後の生理食塩液は完全に除去する)

*洗浄操作が不十分
血漿蛋白が残り、抗グロブリン試薬が中和されてしまう→偽陰性

抗ヒトグロブリン試薬*2 2滴

900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒

判定

*洗浄効果不足の原因
混和不足 回数不足 最終洗浄の生食液除去不足

IgG感作赤血球 1滴 (ただし、陰性を呈した試験管のみ)

900~1,000G (3,000~3,400rpm) 15秒

洗浄操作・抗グロブリン試薬の確認

凝集を確認する (凝集しない場合は無効)

PEG : polyethylene glycol, LISS : low-ionic-strength solution

緊急輸血検査について





緊急輸血検査の 心得 (summary)

慌てない！落ちついて！

- 輸血時の血液型検査は異なる時点での2検体でチェックを行う！
- 血液型検査および不規則性抗体スクリーニング検査用手法を確認しておく。
- 輸血検査（ABO,SCR,XM）での異常反応が出た場合は速やかに輸血担当技師に連絡を取る（連絡体制の構築）



やるべきこと

- 交差適合試験
- 血液型検査
- 不規則抗体スクリーニング

交差適合試験 ≡ 血液型検査 > 不規則抗体スクリーニング

※検査の手順は自施設のルールに則り実施すること。

輸血実施までの時間配分と 検査時間を把握しましょう

交差適合試験（クロスマッチ）

1. ノンクロス(O型RBC) (0分)
2. 生理食塩液法 (5分)
3. 間接抗グロブリン試験 (20分)

血液型検査

1. 試験管法 (5分)
2. スライド法 (3分)
3. 機器による測定 (10-15分)

O型異型適合輸血
(ノンクロス)



生食法XM

1回目
血液型検査

2回目
血液型検査

クロスマッチ (XM) 間接抗グロブリン試験

不規則抗体スクリーニング

検査の所要時間と時間配分をしっかりと！！

※同型血による輸血またはO型輸血

生食法XM



0分

5分

10分

15分

20分

25分

30分

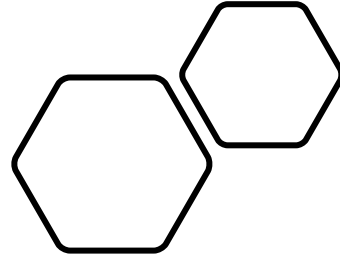
輸血開始

輸血開始

輸血開始 (待てる時間)

輸血開始

輸血実施時には
血液型を
確定すべし！



血液型の確定とは？

輸血を行う場合

- 1.血液型検査は救急外来でまず生化学/
血算/凝固/尿検体などが依頼される。
- 2.上記とは別にもう一度採血を依頼して
血液型検査を実施してください。

※必ず輸血実施前に

用手法での血液型検査は、2人の検査者
(技師以外に看護師や医師でも可)が
それぞれ検査し、ダブルチェックする
ように努める(厚労省の指針に記載)

IV 患者の血液型検査と不規則抗体スクリーニング検査

3.4 同一患者および同一検体の二重チェック

IV 1.1) 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。

IV 1.2) 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。

厚生労働省：輸血療法の実施に関する指針

日本輸血細胞治療学会：赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂2版）