

not reliable in the presence of HLA Class I antibodies.¹ To overcome these limitations, we established gene-transfected K562 cell lines (KY-1a, -1b, and -2a) that express HNA-1a, -1b, or -2a antigens with low background reactivity, but which do not express HLA Class I, HLA Class II, and HNAs.² In this report, we describe the establishment of new cell lines that selectively express HNA-1c, -4a, -4b, -5a, or -5b antigens. HNA-1c is the third allotype of HNA-1 and is located on FcγRIIIb.³ We sequenced nucleotides of the FcγRIIIb coding region from cells expressing HNA-1c, which showed a single-base C→A mutation at position 266, resulting in an Ala78Asp amino acid substitution. HNA-4 and -5 are both integrins (αMβ2 and αLβ2, respectively) and share the β2 subunit (CD18). Polymorphism in the β2 subunit has not been reported previously. The antigenic polymorphism of HNA-4 is caused by a single-nucleotide substitution (G302A) in DNA coding for the αM subunit (CD11bMart(a+) and CD11bMart(a-)), which predicts an Arg61His amino acid polymorphism, while the HNA-5 antigen polymorphism is caused by a G2466C substitution in the DNA coding for the αL (CD11aOnd(a+) and CD11aOnd(a-) subunit), which predicts an Arg766Thr amino acid polymorphism. Using methods that we described previously,² we established cell lines selectively expressing HNA-1c, -4a, -4b, -5a, or -5b, using K562 as the parental cell line and retrovirus vectors pQCXIP and pQCXIN (Becton Dickinson, San Jose, CA). We were not able to establish cell lines expressing HNA-3a, because this antigen is not yet characterized biochemically and genetically. Since HNA-4 and HNA-5 are composed of two subunits, polymerase chain reaction (PCR)-cloned α and β subunit cDNAs were ligated into pQCXIP and pQCXIN, respectively, and pQCXIP-CD11bMart(a+), pQCXIP-CD11bMart(a-), pQCXIP-CD11aOnd(a+), pQCXIP-CD11aOnd(a-), and pQCXIN-CD18 were obtained. These were subsequently packed into viral particles and coinfecting with K562 cells by the combinations of pQCXIN-CD18 and pQCXIP-CD11bMart(a+), pQCXIP-CD11bMart(a-), pQCXIP-CD11aOnd(a+), or pQCXIP-CD11aOnd(a-). The K562 cells, which gene-transduced either HNA-1c, -4a, -4b, -5a, or -5b, were designated KY-1c, -4a, -4b, -5a, -5b, respectively.

Since there are no antibodies known that distinguish HNA-4 and -5 allotypes, we first examined the expression of the transgene on each established cell line with monoclonal antibodies (MoAbs) that recognize HNA-4 (CD11b), HNA-5 (CD11a), or the shared β2 subunit (CD18) (Fig. 1).

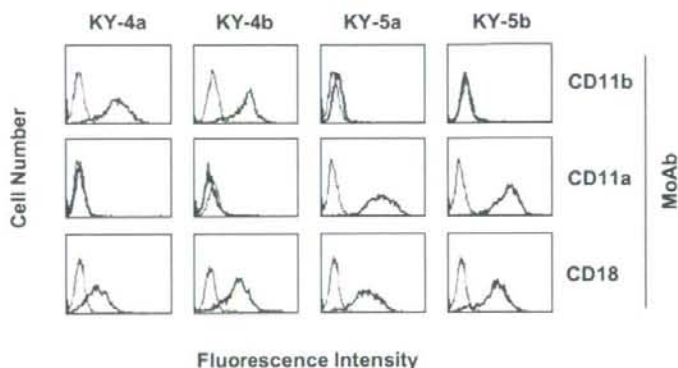


Fig. 1. FCM analysis of representative K562 cell clones expressing either HNA-4 (KY-4a and -4b) or HNA-5 (KY-5a and 5b). KY-4a, KY-4b, KY-5a, KY-5b, and KY-mock were tested by FCM assay for reactivity with MoAbs to HNAs. These cells were stained with 10 μg per mL of fluorescein isothiocyanate conjugated with anti-CD11b, anti-CD11a, or anti-CD18. Thin lines represent the KY-mock that was transfected with empty vectors.

Similarly, we verified the expression of HNA-1 antigen on those cell lines transfected with HNA-1c (KY-1c; data not shown), because there is no MoAb that specifically recognizes HNA-1c. To confirm allotype-specific expression at the mRNA level, we performed reverse transcription (RT)-PCR allele-specific restriction enzyme analysis using total RNA samples from KY cells.⁴ The RT-PCR products digested with a restriction endonuclease that KY-4a expressed HNA-4a mRNA and KY-4b expressed HNA-4b mRNA (Fig. 2). Similarly, allotype specificity was confirmed with KY-5a, KY-5b, and KY-1c cells (data not shown).

Using these cells that selectively express HNA-1c, -4a, -4b, -5a, or -5b antigens, we produced panels that, we anticipate, will facilitate identification of HNA-specific antibodies in serum.

Kazuta Yasui, PhD

e-mail: yasui-kazuta@osaka.bc.jrc.or.jp

Fumiya Hirayama, MD, PhD

Nobuki Matsuyama, MT

Rika A. Furuta, PhD

Takafumi Kimura, MD, PhD

Yoshihiko Tani, MD, PhD

Hirotohi Shibata, MD, PhD

Japanese Red Cross

Osaka Blood Center

Osaka

Miki Odagiri, MA

Yoshihisa Watanabe, PhD

Japanese Red Cross

Research and Development Central Blood Institute

Tokyo, Japan

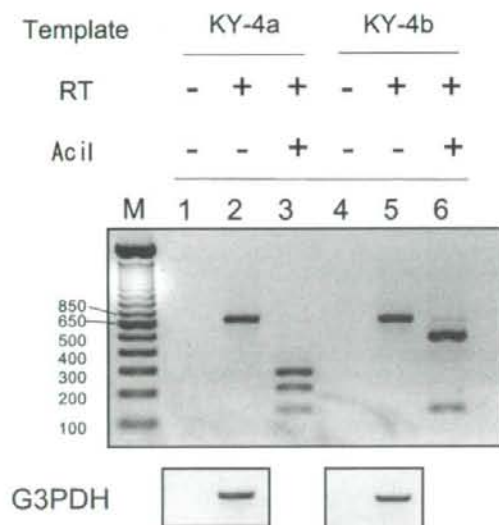


Fig. 2. Restriction analysis of the K562 cell clones expressing either HNA-4a or -4b. The N-terminus of the CD11b cDNA, including the Mart polymorphism, was RT-PCR amplified, and the resulting 604-bp fragment was treated with *Acil* restriction endonuclease. The expected fragments of CD11bMart(a+) (HNA-4a) after *Acil* digestion are 278-, 208-, and 124-bp fragments (Lane 3), and those of CD11bMart(a-) (HNA-4b) are 480- and 124-bp fragments (Lane 6). RT-PCR for the RNA samples from KY-4a, KY-4b, and KY-mock cells were performed in the presence (Lanes 2, 3, and 5-7) or absence (Lanes 1 and 4) of reverse transcriptase (RT). Lane M = 100-bp DNA size marker; Lanes 1 through 3 = KY-4a; Lanes 4 through 6 = KY-4b. In Lanes 3 and 6, the RT-PCR products were digested with *Acil*. As a control, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) mRNA was analyzed (bottom panels).

REFERENCES

- Bux J, Kissel K, Hofmann C, Santoso S. The use of allele-specific recombinant Fc γ IIIb antigens for the detection of granulocyte antibodies. *Blood* 1999;93:357-62.
- Yasui K, Miyazaki T, Matsuyama N, Kojima Y, Furuta RA, Fujisawa J-I, Tani Y, Shibata H, Sato S, Kato T, Ikeda H, Hirayama F. Establishment of cell lines stably expressing HNA-1a-1b, and -2a antigen with low background reactivity in flow cytometric analysis. *Transfusion* 2007;47:478-85.
- Bux J, Stein EL, Bierling P, Fromont P, Clay M, Stroncek D, Santoso S. Characterization of a new alloantigen (SH) on the human neutrophil Fc γ receptor IIIb. *Blood* 1997;89:1027-34.
- Simsek S, van der Schoot CE, Daams M, Huiskes E, Clay M,

McCullough J, van Dalen C, von Stroncek D, von dem Borne AE. Molecular characterization of antigenic polymorphisms (Ond^a and Mart^b) of the β 2 family recognized by human leukocyte alloantisera. *Blood* 1996;88:1350-8.

Blood types of current embryonic stem cell lines are not conducive to culturing "universal-donor" red blood cells

Human stem cells can be cultured and expanded ex vivo, raising the possibility that large-scale application of the technology might result in a source of transfusable red blood cells (RBCs).¹⁻³ At least one laboratory has produced large numbers of primitive erythroid cells starting from undifferentiated human embryonic stem (ES) cells.³ While these cells are fully hemoglobinized and express a mixture of embryonic and fetal globins, they do not express beta-globin. Nevertheless, the investigators raise the prospect that "production of mature red blood cells from human ES cells is of great potential practical importance because it could eventually become an alternate source of cells for transfusion."³ Not unexpectedly, these early experimental efforts have stimulated speculation that such cultured RBCs could eventually replace donor-derived blood products.

In our opinion, the prospect that these efforts will result in antigen-free "universal-donor" RBCs, at least in the foreseeable future, is unlikely. While progress has been made removing blood group A- and B-defining carbohydrates from donor RBCs,^{4,5} other blood group antigens remain on donor or cultured RBCs, which will limit the universal application of cell line-derived RBCs.

To evaluate the potential of six ES-cell lines that are currently available in the United States to meet transfusion-relevant needs, we performed selected blood group genotype analyses using commercially available, sequence-specific polymerase chain reaction kits (ABO, MNSs, Inno-Train, Kronberg, Germany; RH-type, KKD-type, Biologische Analysensystem GmbH, Lich, Germany).⁶ From these genotypes, we predicted blood group phenotypes (Table 1), which reveal that all of the tested ES-cell lines are D+. RBCs derived from these cell lines would not be optimal for unmatched emergency transfusions, for which transfusion of D- RBCs is standard practice. These cell lines also possess other blood group genes, which would further limit their application as universal-donor RBCs. We believe that these results identify the blood group genotype of embryonic cell lines as an important factor to be considered when culturing RBCs for transfusion. We encourage attention to the blood group antigen profile of embryonic cell lines so that, if successful, the resultant RBCs will have antigenic characteristics, such as

gestational age in the meconium group, which is quite common in prolonged pregnancies.

When associating meconium with fetal distress, it is important to note that finding meconium by itself does not necessarily imply that fetal stress is currently present. It might occur as a rather common phenomenon in post-term pregnancies. These pregnancies, however, tend to have a greater incidence of placental insufficiency and thus require more often an operative delivery (vaginal or abdominal).

Furthermore a prolonged first- and/or second-stage labor does not necessarily lead to obvious fetal distress if delivery is initiated in time. The analysis of our own data shows no correlation between the duration of labor and TNC count, with or without meconium.

The in utero UCB collection has been shown to be more efficacious compared to the ex utero technique.^{2,3} In this letter there were significant differences in collection techniques among the groups. Interestingly, although there were more ex utero UCB collections in the meconium group, the TNC yield was higher. Here, we would suggest a multivariate statistical analysis to exclude any confounding variables that influence the TNC count. This would strengthen the issue whether meconium staining itself is an independent factor for TNC yield. Such an analysis would also help to identify the impact of the gestational age and birth weight for the TNC count since in Solves's data these two variables are significantly higher in the meconium group and might bias the results.

In conclusion, all of the present studies suggest that fetal distress during labor as indicated by low umbilical arterial pH or operative delivery (vaginal or abdominal) leads to a mobilization of hematopoietic progenitor cells into the UCB. The physiology of the mobilization of stem cells into the UCB during labor and delivery is not well understood and further studies are needed to better understand which cytokines mediate stem cell mobilization and which stem cell populations then can be collected depending on fetal distress.

Gwendolin Manegold, MD

e-mail: gmanegold@uhbs.ch

Wolfgang Holzgreve, MD

Carolyn Troeger, MD

*Department of Obstetrics and Gynecology
University Women's Hospital Basel
Basel, Switzerland*

REFERENCES

1. Lim FT, Scherjon SA, van Beckhoven JM, Brand A, Kanhai HH, Hermans JM, Falkenburg JH. Association of stress during delivery with increased numbers of nucleated cells and hematopoietic progenitor cells in umbilical cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1144-52.
2. Surbek DV, Visca E, Steinmann C, Tichelli A, Schatt S, Hahn S, Gratwohl A, Holzgreve W. Umbilical cord blood collection before placental delivery during cesarean delivery increases cord blood volume and nucleated cell number available for transplantation. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:218-21.
3. Solves P, Larrea L, Soler MA, Mirabet V. Maternal, neonatal and collection factors influencing the haematopoietic content of cord blood units. *Acta Haematol* 2005;113:241-6.

Establishment of a novel method for detecting Nak^a antibodies by using a panel cell line

The surface membrane of platelets (PLTs) contains a variety of molecules, including ABO blood type antigens, human leukocyte antigens (HLAs), human PLT antigens (HPAs), and Nak^a antigen (which is localized on CD36). Antibodies to these molecules have been regarded as the principal causes of various reactions elicited by PLT transfusion, such as refractoriness and posttransfusion purpura. These antibodies have also been assumed to cause neonatal alloimmune thrombocytopenia and idiopathic thrombocytopenic purpura. In addition, Nak^a antibodies were reported to be associated with critical life-threatening cases.¹⁻³ Thus, it is extremely important to establish a reliable method for determining Nak^a antibodies from the medical viewpoint.

The mixed passive hemagglutination (MPHA) test, which uses a panel derived from PLTs or their membranes, has been widely applied for the detection of antibodies to PLTs. However, with this method, it is practically difficult to identify antibodies against CD36 or HPAs in the presence of HLA antibodies. Recently, Yasui and coworkers^{4,5} reported a new method for the detection of neutrophil-associated antibodies; this method was not affected by the presence of HLA antibodies. In this method, target genes were introduced into K562 cells that did not express HLA molecules or other human neutrophil antigens. Since K562 cells do not express CD36 or HPAs, we attempted to use this method for the detection of Nak^a antibodies by using a K562 cell line (termed HP-Nak) that stably expresses CD36.

Briefly, full-length CD36 cDNA was ligated into pQCXIP (Takara, Shiga, Japan); the CD36 cDNA had been amplified by reverse transcription-polymerase chain reaction method with a primer set, GAAAAATCCTTCT TAGCCATT and ATTTGTGCTATTGTTACAATG, which was derived from the mRNA extracted from the PLTs of a healthy donor after obtaining informed consent. Subsequently, the ligated CD36 cDNA was packed into a viral

particle and transfected with K562 cells. A clone of HP-Nak was selected as the panel cell line because of its high level of CD36 expression, which was examined using CD36 monoclonal antibody (MoAb) CB38 (BD Biosciences, Tokyo, Japan) and flow cytometric analysis (data not shown). Western blot analysis revealed that the established HP-Nak cell line expressed CD36 molecules having the same molecular weight as that of PLTs (Fig. 1A). Stable and strong CD36 expression in the HP-Nak cells was observed continuously for at least 6 months (Fig. 1B).

To examine whether our HP-Nak panel cell line can be applied for clinical diagnosis, we analyzed its properties by using indirect fluorescent-antibody flow cytometric method and characterized serum samples (Fig. 2). We tested a total of eight serum samples that had been obtained from blood donors, patients with PLT transfusion refractoriness, and patients with neonatal alloimmune thrombocytopenia. These samples contained Nak^a antibodies of the immunoglobulin G (IgG) class, as characterized by MPHA. The result clearly showed that the IgG Nak^a antibodies were unambiguously detected by the HP-Nak cells in all the tested samples. Additionally, two

serum samples were found to contain the IgM Nak^a antibodies (that had not been identified by MPHA) in addition to the IgG Nak^a antibodies. In contrast, the HP-Nak cells showed extremely low background reactivity to 20 random control serum samples, 20 serum samples containing HLA antibodies that were characterized by LABScreen (One Lambda, Canoga Park, CA; data not shown), 2 serum samples containing anti-HPA-3a, 1 serum sample containing anti-HPA-4b, and 1 serum sample containing anti-HPA-5a; these anti-HPA were characterized by MPHA (Olympus, Tokyo, Japan; data not shown). Furthermore, the HP-Nak cells did not react with isotype controls (both IgG and IgM) and MoAbs that were related to a variety of HPAs, including CD41a (clone HIP8), CD42 (clone HIP1), CD49b (clone I2F1-H6), and CD109 (clone TEA2/16; data not shown). These MoAbs were obtained from BD Biosciences. The sensitivity of our HP-Nak panel cell system to detect the Nak^a antibody was determined by indirect fluorescent-antibody flow cytometric assay with MoAbs FA6.152 and CB38 as the IgG and IgM types of CD36 antibodies, respectively. We found that our assay system could detect the CD36 antibody at a concentration as low as 0.2 µg per mL (data not shown). Additionally, the sensitivity of our panel cell system was comparable to that of MPHA by limiting the dilution of 3 samples containing Nak^a antibodies but not HLA antibodies (data not shown).

These results indicate that the HP-Nak panel cell system is an excellent method for the detection of Nak^a antigen-reactive PLT antibodies in human serum samples. Currently, we are preparing HPA-expressing cell lines to enable the detection of HPA antibodies.

Tomoya Hayashi, MS

e-mail: hayashi-to@osaka.bc.jrc.or.jp

Kazuta Yasui, PhD

Nobuki Matsuyama, MT

Rika A. Furuta, PhD

Yuji Hori, BS, MT

Shigenori Tanaka, PhD

Fumiya Hirayama, MD, PhD

Yoshihiko Tani, MD, PhD

Hirotohi Shibata, MD, PhD

Masayasu Inoue, MD, PhD

Japanese Red Cross Osaka Blood Center

Department of Biochemistry and

Molecular Pathology

Medical School

Osaka City University

Osaka, Japan

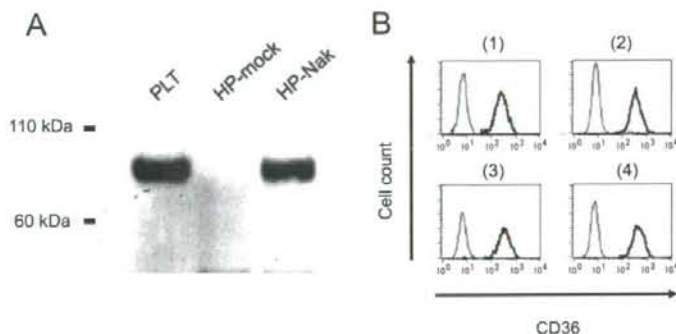


Fig. 1. Expression of CD36 in HP-Nak cells. (A) Western blot analysis for CD36 in the established cell lines. The lysates of CD36-positive human PLT, HP-mock cells (pQCXIP-infected K562 cells), and HP-Nak cells were subjected to Western blot analysis. Protein aliquots (10 µg) were subjected to 7.5 percent sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. The electrophoresed proteins were transferred to a polyvinylidene fluoride membrane, and FA6.152 and anti-mouse IgG-horseradish peroxidase (Promega, Madison, WI) were used as the primary and secondary antibodies, respectively. Protein bands were visualized by chemiluminescence reagent (Western Lightning Chemiluminescence Reagent Plus, PerkinElmer, Boston, MA) and detected by a chemiluminescence system (ChemIDoc, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). (B) Stable expression of CD36 in the HP-Nak cell line. HP-mock cells and HP-Nak cells were cultured for 6 months in the presence of 0.5 µg per mL puromycin for the maintenance of transgene expression; their reactivity with the CD36 MoAb was analyzed by flow cytometry at the following time points: immediately (1) and at 2 (2), 4 (3), and 6 months (4) after their establishment. Thin lines and bold lines indicate HP-mock cells and HP-Nak cells, respectively.

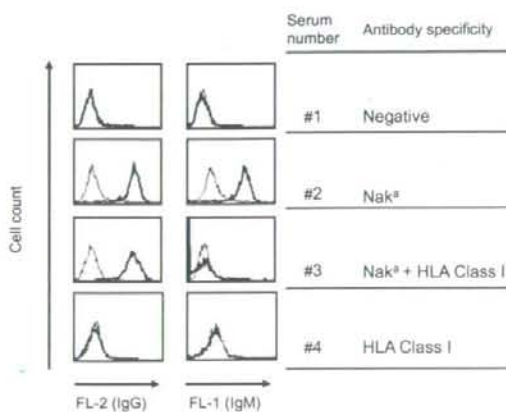


Fig. 2. Histogram of HP-Nak cells that reacted with various serum samples. HP-mock cells and HP-Nak cells were incubated with well-characterized human serum samples, washed with phosphate-buffered saline, and labeled with a mixture of secondary antibodies (fluorescein isothiocyanate-conjugated anti-human IgM and phycoerythrin-conjugated anti-human IgG) obtained from Jackson ImmunoResearch Laboratories (West Grove, PA). Representative flow cytometric profiles are shown. The serum samples were obtained from a random healthy donor (#1), patients with PLT transfusion refractoriness (#2 and #4), and a patient with neonatal alloimmune thrombocytopenia (#3). Thin lines and bold lines indicate HP-mock cells and HP-Nak cells, respectively.

REFERENCES

- Morishita K, Wakamoto S, Miyazaki T, Sato S, Fujihara M, Kaneko S, Yasuda H, Yamamoto S, Azuma H, Kato T, Ikeda H. Life-threatening adverse reaction followed by thrombocytopenia after passive transfusion of fresh frozen plasma containing anti-CD36 (Nak) isoantibody. *Transfusion* 2005; 45:803-6.
- Nakajima F, Nishimura M, Hashimoto S, Okazaki H, Tadokoro K. Role of anti-Naka antibody, monocytes and platelets in the development of transfusion-related acute lung injury. *Vox Sang* 2008; Early View, Date: August 2008.
- Okajima S, Cho K, Chiba H, Azuma H, Mochizuki T, Yamaguchi M, Sato S, Ikeda H, Yamada H, Minakami H, Ariga T, Kobayashi K. Two sibling cases of hydrops fetalis due to alloimmune anti-CD36 (Naka) antibody. *Thromb Haemostasis* 2006;95:267-71.
- Yasui K, Hirayama F, Matsuyama N, Furuta RA, Kimura T, Tani Y, Shibata H, Odagiri M, Watanabe Y. New cell lines express HNA-1c, -4a, -4b, -5a, or -5b for identification of HNA antibodies. *Transfusion* 2008;48:1037-9.
- Yasui K, Miyazaki T, Matsuyama N, Kojima Y, Furuta RA, Fujisawa J-I, Tani Y, Shibata H, Sato S, Kato T, Ikeda H, Hirayama F. Establishment of cell lines stably expressing

HNA-1a, -1b, and -2a antigen with low background reactivity in flow cytometric analysis. *Transfusion* 2007;47: 478-85.

Complications of plasma exchange in patients treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. IV. An additional study of 43 consecutive patients, 2005 to 2008

Because of increasing frequency and the frequent uncertainty of the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), complications caused by plasma exchange (PE) are a critical consideration for initial management decisions. The Oklahoma TTP-HUS Registry has prospectively assessed each PE procedure for all patients treated for clinically diagnosed TTP since 1996. The Registry is an inception cohort of all consecutive patients in 58 of Oklahoma's 77 counties who were diagnosed with TTP or hemolytic uremic syndrome (HUS) and for whom PE was requested; in this report we use the term TTP to describe all patients. We have previously reported data on 206 patients treated in 1996 through 2005;¹⁻³ this report describes our experience during 2005 to 2008, confirming the substantial risks associated with PE treatment for TTP.

From June 26, 2005, to June 25, 2008, 43 consecutive patients were treated with PE treatment for their first episode of clinically diagnosed TTP. Ten (23%) patients had an unexpected, alternative diagnosis established after PE was begun that explained their acute disorder (sepsis 6, HIV infection 2, cancer 1, multiorgan failure 1); they are included in this analysis. Catheters are typically placed by interventional radiologists, although some were placed by surgeons or intensive care physicians. Details of our definitions for major and minor complications and complications related to central venous catheters or plasma reactions have been previously described.¹

Seven (16%) of 43 patients treated with 502 procedures (median, 7) had 8 major complications; 2 patients died, both from sepsis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (Table 1). In both patients, the source of the sepsis was attributed to the indwelling central venous catheter; the patients were in different community hospitals 19 months apart. In Patient 1, autopsy revealed aspergillosis as the etiology for the abnormalities that had initially suggested the diagnosis of TTP; the other 6 patients had no alternative etiologies. Patient 2 had had another major complication earlier during her course when her initial catheter had become obstructed, requiring removal and placement of a new catheter in the opposite internal jugular vein. Four other patients had nonfatal catheter-related major complications. In 1 patient, thrombosis of her internal jugular catheter prevented a planned final procedure. In 1 patient, continuous bleeding at the

輸血前血清を凍結保管していたことで B 型肝炎ウイルス再活性化の経過を調査した 1 例

紀野 修一¹⁾ 友田 豊¹⁾ 伊藤 玲美¹⁾ 洪佐 琴恵¹⁾ 葛西 眞一²⁾
 生田 克哉³⁾ 細木 卓明³⁾ 佐藤 一也³⁾ 鳥本 悦宏³⁾ 高後 裕³⁾
 森下 勝哉⁴⁾ 佐藤進一郎¹⁾ 加藤 俊明⁴⁾ 池田 久實⁴⁾

大量化学療法施行後に、B型肝炎ウイルス (HBV) が再活性化したと考えられる輸血患者を経験した。多発性骨髄腫と診断された 50 歳代の女性に対し自己末梢血幹細胞移植を含む大量化学療法を施行した際、赤血球濃厚液を 20 単位、血小板濃厚液を 305 単位使用した。治療 1 年後 (2005 年 9 月) に輸血後感染症検査を行ったところ、HBV-DNA が陽性であった。治療前 (2002 年 8 月) と輸血継続中 (2004 年 2 月) の HBs 抗原が陰性であったため、輸血による HBV 感染を疑い、2003 年 9 月から 2005 年 4 月までの患者保管検体 (合計 12 本) で検査を行った。輸血前 (2003 年 9 月) の検体では、HBsAg (-)、HBsAb (+)、HBV-DNA (-) であったが HBeAb (+) で、潜在性 HBV 感染と推定された。以降、2004 年 9 月までは同様の検査結果であったが、2005 年 4 月には HBs 抗原の陽性化とともに血清中に HBV-DNA が確認され、HBV の再活性化と診断。HBs 抗体の力価は、2003 年 9 月から行われた大量化学療法に一致し徐々に低下、2005 年 4 月には陰性化した。HBV 陽性の期間、ウイルス再活性化による肝炎は発症していない。輸血血液保管検体の個別核酸増幅検査はすべて陰性で、輸血による HBV 感染は否定された。本症例では輸血後感染症検査によって HBV 感染が初めて認識され、輸血前を含む保管検体の遡及調査で、HBV 再活性化にいたる変化を追跡し得た。輸血後にはじめてウイルス感染が確認された場合には、その原因をつきとめるために輸血前検体の保存が必須である。

キーワード：輸血前検体保管、輸血後感染症検査、HBV 再活性化、潜在性 HBV 感染

はじめに

2004 年 9 月 17 日、厚生労働省通知により、「輸血療法の実施に関する指針」が一部改正され、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、ヒト後天性免疫不全症候群ウイルス (HIV) については、輸血による感染の有無を検査することが推奨された¹⁾。

今回、輸血前の HBs 抗原が陰性であったが、輸血後の HBs 抗原と HBV-核酸増幅検査 (NAT) がともに陽性化し、潜在的 HBV 感染 (occult HBV infection) 症例の HBV 再活性化と推定される症例を経験した。本症例の HBV マーカーの変動を、輸血前、輸血継続中、輸血後の凍結保管血清を用いて、詳細に調査・検討できたので報告する。

症 例

症例は 50 歳代の女性。2003 年 8 月、感冒様症状で近医を受診した際に左胸部の腫脹を指摘された。当院での開放腫瘍生検、血液検査および骨髄穿刺により多発性骨髄腫と診断され、同年 9 月より血液内科で治療開始した。MP 療法を施行したが十分な効果を得られず、VAD 療法を 4 コース施行した (Fig.)。一度縮小した左前胸壁の腫瘍が再増大したため、MCNU-VMP 療法を 1 コース施行。2004 年 4 月に胸壁腫瘍に 30 グレイの放射線治療を施行した。5 月と 7 月にサイクロフォスファミド大量療法に顆粒球コロニー刺激因子を併用して自己末梢血造血幹細胞を採取し、9 月にメルファラン大量療法後に自己末梢血造血幹細胞移植を施行した。10 月の骨髄穿刺では形質細胞を認めず完全寛解と診断された。治療経過中 (2003 年 9 月から 2004 年 10 月) に

1) 旭川医科大学病院 臨床検査・輸血部 輸血・細胞療法部門

2) 旭川医科大学外科学講座 消化器病態外科学部門

3) 旭川医科大学内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学分野

4) 北海道赤十字血液センター

[受付日：2007 年 3 月 1 日、受理日：2007 年 4 月 17 日]

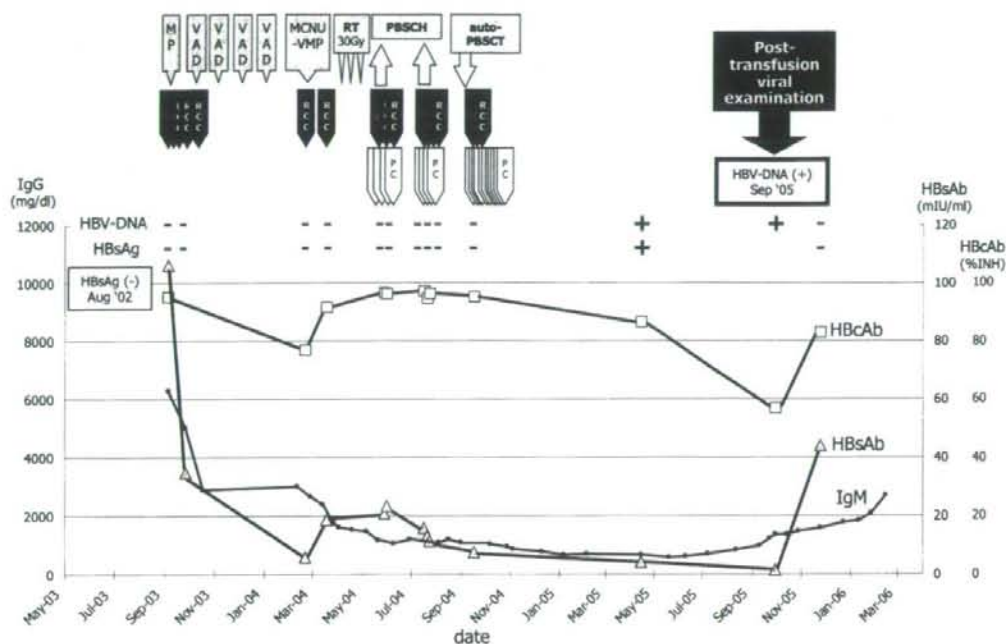


Fig. Clinical course and changes in HBV markers

From September 2003 to October 2004, she received platelet concentrates derived from 19 donors and red cell concentrates derived from 15 donors.

She underwent posttransfusion viral examination in September 2005. HBV was first detected in her blood sample.

According to records maintained at our hospital, she was HBsAg (-) in Aug 2002.

RCC: red cell concentrate

PC: platelet concentrate

MP: melphalan and prednisolone

VAD: vincristine-adriamycin-dexamethasone

MCNU-VMP: ranimustine, vindesine, melphalan, prednisolone

PBSCH: peripheral blood stem cell harvest

PBSCT: peripheral blood stem cell transplantation

RT: radiation therapy

(-): negative for HBV-DNA or HBsAg

(+): positive for HBV-DNA or HBsAg

赤血球濃厚液を 20 単位 (15 ドナー)、血小板濃厚液を 305 単位 (19 ドナー) 使用している (Fig.)。

輸血前患者検体の保管

当院では、輸血療法の実施に関する指針 (平成 11 年 6 月 10 日、医薬発第 715 号)²⁾に基づき、1999 年 8 月から交差適合試験の際に残った患者血清約 1ml を約 2 年間凍結保管している。本症例においては、12 本の患者血清が凍結保管されていた。

輸血後感染症検査実施体制

当院では 2005 年 7 月の輸血患者から、日本赤十字社の全数調査の一環として、輸血後感染症検査 (HBV-

NAT; nucleic acid amplification test, HCV-NAT, HIV-NAT)を開始した。また、血液疾患などで継続的に輸血を受けている場合は、3 カ月に 1 回をめぐり、感染症検査を行う体制をスタートさせた。本症例は多発性骨髄腫治療のため継続的に輸血を行っていた経過があるため、2005 年 9 月輸血後感染症検査を行った (Fig.)。HBV 関連マーカーの検査は北海道赤十字血液センターで実施した。HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体検査には、AxSYM[®] システム (Abbott) を用いた。HBs 抗原は 2.0 S/CO 以上、HBs 抗体は 5mIU/mL 以上、HBc 抗体は INH 50% 以上を陽性とした。HBV-NAT は日本赤十字社血漿分画センターにて行われ、300 コピー/mL 以上を陽性とした。

また、輸血に用いられた製剤すべての個別 NAT を行った。

結 果

1. 患者血清 HBV 関連マーカーの変動

輸血前 (2002 年 8 月) に今回とは違う理由で本院を受診したときの検査では HBs 抗原が陰性であったが、2005 年 9 月の HBV-NAT は陽性であった。輸血による HBV 伝播を疑い、輸血前、輸血継続中、輸血後の患者保管検体 (全 12 検体) の週及調査を行った。

1) 輸血前 (2003 年 9 月) の保管血清を調べたところ、HBs 抗原陰性、HBs 抗体陽性、HBV-NAT 陰性であったが、Hbc 抗体陽性であり、患者は HBV の既往感染者であることが判明した (Fig.)。

2) 経過中の HBV マーカーの変動 (Fig.)

① Hbc 抗体は全経過を通じ陽性であった。

② HBs 抗体価は輸血前 (2003 年 9 月) に 106mIU/mL であったが、2004 年 2 月の時点で陽性判定下限に近い 5.9mIU/mL まで低下した。その後、HBs 抗体価は一時的に 20mIU/mL 台まで上昇したが、2005 年 4 月には 4.3、2005 年 9 月には 1.4mIU/mL と低下し、その時期に一致して HBV-DNA は陽性となった。2005 年 11 月には、HBs 抗体価が再上昇し、HBs 抗原と HBV-DNA は陰性化した。

③ HBs 抗原は、HBs 抗体が陰性となった 2005 年 4 月に陽性 (7.08S/CO) となっていた。2005 年 9 月の HBs 抗原は検体量が足りないため測定されていない。

④ HBV-DNA が血中に出現していた期間の血清トランスアミナーゼや総ビリルビン値の上昇はなく、臨床的にも肝炎を疑う症状はなかった。

2. 供血者保管検体の個別 NAT

輸血に用いられた血液の個別 NAT はすべて陰性であった。

考 察

血清学的に HBs 抗原陰性、HBs 抗体陽性の患者が強力な化学療法、臓器移植、幹細胞移植などで免疫抑制状態になると、HBV が再活性化し血中に HBV が検出されるようになることがある³⁾。さらに、再活性化した HBV により肝炎を発症することがある^{4)~7)}。

また、HBs 抗原が陰性化し HBs 抗体が出現しても、肝組織や末梢血単核細胞中に HBV-DNA の存在が証明され、HBV が複製している可能性が考えられている^{8)~10)}。

本症例では、治療終了後約 1 年間経過した時点で行った輸血後感染症検査で、HBV-DNA 陽性の結果となり、この時点で初めて HBV 感染が確認された。輸血前の HBs 抗原が陰性であったため輸血による HBV 伝播を疑い、輸血前、輸血継続中、輸血後の患者保管血清を用いて

HBV マーカーを検査した。輸血前保管血清の検査結果では、HBs 抗体と Hbc 抗体が陽性であったため、HBV の既感染であることが判明した。HBV マーカーの経時的変化を見ると、化学療法開始直後から HBs 抗体価は低下し、治療経過を通じ HBs 抗体価は輸血前に比べ低値であった。さらに治療終了後には HBs 抗体価は陰性化し、対照的に HBs 抗原が陽性化した。また、HBs 抗体価がカットオフ値未満に低下していた時期に HBV-DNA が陽性化していた。したがって、本症例では輸血前から潜在的 HBV 感染 (occult HBV infection) の状態にあったものが、大量化学療法と末梢血幹細胞移植を機として HBV の再活性化がおきたものと考えられる。

輸血前に陰性であった HBV が輸血後に陽転化した場合、検査結果が正しいことを確認できれば、その原因として輸血によるウイルス伝播、ウイルスの再活性化、院内または院外での接触感染などが考えられる。これらの可能性を鑑別し、輸血によるウイルス伝播か否かを証明するためには、輸血前の患者血清を凍結して保管しておくことが必須である。患者血清の保管ができない場合は、HBV 感染の既往を輸血前に確認するために HBs 抗体と Hbc 抗体を検査する必要がある¹¹⁾。潜在的 HBV 感染の場合は、HBs 抗体、Hbc 抗体のいずれかが陽性のこともあるため、両者とも検査する必要があると思われる¹²⁾。したがって、入院時検査や手術前検査としてしばしば行われている HBs 抗原検査は医療従事者の針刺し事故対策や院内感染対策などには意味をもつであろうが、HBV 既往感染者が多く存在する我が国においては、輸血後患者において輸血を介した HBV 伝播があったか否かを調査するためには、HBs 抗原検査よりもむしろ輸血前に HBV 既往感染の有無をチェックするほうが重要であると思われる。輸血予定の患者に対しては、輸血前の血清を凍結保管するか、輸血前に HBs 抗体と Hbc 抗体検査を実施し、その上で輸血後に HBV-DNA などの HBV 関連マーカーや肝機能を検査することが肝要である。

2004 年 4 月 1 日に生物由来製品感染等被害救済制度が創設され、生物由来製品を適正に使用したにもかかわらず、その製品が原因で感染症にかかり、入院治療が必要な程度の疾病や障害等の健康被害を受けた患者の救済が図られることになった。また、輸血療法の実施に関する指針では、輸血予定の患者に説明する項目として感染症救済制度と給付の条件、感染症検査の実施と検体保管について記述され、輸血前と輸血後に感染症検査を行うことが推奨されている¹³⁾。したがって、輸血後にウイルス感染が明らかになり、救済制度の対象となるためには、輸血による感染を証明できることが条件と考えられる。このように救済制度を意義あるものにするためにも、輸血患者の輸血前検体の保管は

必須と考えられる。

結 語

大量化学療法施行後に、HBV が再活性化したと考えられる輸血患者を経験した。本症例では輸血後感染症検査によって HBV 感染が初めて認識され、輸血前を含む保管検体の遡及調査で、HBV 再活性化にいたる変化を追跡し得た。大量化学療法による免疫抑制によって HBs 抗体産生が低下し、最終的に HBV の再活性化が生じたと推定される。輸血後にはじめてウイルス感染が確認された場合には、その原因をつきとめるために輸血前検体の保存が必須である。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局長：血小板製剤の使用適正化の推進及び「輸血療法の実施に関する指針」の一部改正について。薬食発第 0917005 号、2004。
- 2) 厚生省医薬安全局長：血液製剤の使用指針及び輸血療法の実施に関する指針について。医薬発第 715 号、2003。
- 3) 遠藤知之，澤田賢一，藤本勝也，他：HBs 抗体陽性患者における自家末梢血幹細胞移植後の B 型肝炎ウイルス再活性化の検討。臨床血液，41：322—328，2000。
- 4) Goyama S, Kanda Y, Nannya Y, et al: Reverse seroconversion of hepatitis B virus after hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*, 43: 2159—2163, 2002.
- 5) Degos F, Lugassy C, Degott C, et al: Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. *Gastroenterology*, 94: 151—156, 1988.
- 6) Webster A, Brenner MK, Prentice HG, et al: Fatal hepatitis B reactivation after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 4: 207—208, 1989.
- 7) Tsutsumi Y, Kawamura T, Saitoh S, et al: Hepatitis B virus reactivation in a case of non-Hodgkin's lymphoma treated with chemotherapy and rituximab: necessity of prophylaxis for hepatitis B virus reactivation in rituximab therapy. *Leuk Lymphoma*, 45: 627—629, 2004.
- 8) Kuhns M, McNamara A, Mason A, et al: Serum and liver hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B after sustained loss of surface antigen. *Gastroenterology*, 103: 1649—1656, 1992.
- 9) Fong T-L, Di Bisceglie AM, Gerber MA, et al: Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology*, 18: 1313—1318, 1993.
- 10) Komori M, Yuki N, Nagaoka T, et al: Long-term clinical impact of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*, 35: 798—804, 2001.
- 11) Mason A, Yoffe B, Noonan C, et al: Hepatitis B virus DNA in peripheral-blood mononuclear cells in chronic hepatitis B after HBsAg clearance. *Hepatology*, 16: 36—41, 1992.
- 12) 厚生労働省：血液製剤の使用にあたって。じほう，東京，2005。
- 13) Barasain C, Betes M, Panizo A, et al: Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasemia of unknown aetiology. *Gut*, 47: 429—435, 2000.

REACTIVATION OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) IN A MULTI-TRANSFUSED PATIENT —CONFIRMATION BY LOOK-BACK STUDY USING STORED SPECIMENS—

Shuichi Kino¹⁾, Yutaka Tomoda¹⁾, Remi Ito¹⁾, Kotoe Shibusa¹⁾, Shinichi Kasai²⁾, Katsuya Ikuta³⁾,
Takaaki Hosoki³⁾, Kazuya Sato³⁾, Yoshihiro Torimoto³⁾, Yutaka Kohgo³⁾, Katsuya Morishita⁴⁾,
Shinichiro Sato⁴⁾, Toshiaki Kato⁴⁾ and Hisami Ikeda⁴⁾

¹⁾Blood Transfusion and Cellular Therapy, Asahikawa Medical College Hospital

²⁾Gastroenterological Surgery, Asahikawa Medical College Hospital

³⁾Division of Gastroenterology and Hematology/Oncology, Department of Medicine, Asahikawa Medical College Hospital

⁴⁾Hokkaido Red Cross Blood Center

Abstract:

Viral infection in the post-transfusion period is not always the result of the transfusion, especially if the patient has occult hepatitis B virus (HBV) infection. The look-back study using stored specimens of patients and blood donors is an effective way of confirming whether the infection occurred through transfusion or reactivation. We experienced a case of HBV reactivation in a multi-transfused patient after chemotherapy and peripheral blood stem cell transplantation (PB SCT), which could be confirmed by testing HBV markers with stored specimens both from the patient and blood donors.

A female patient with multiple myeloma in her 50s received intensive chemotherapy and autologous stem cell transplantation. Between Sep 2003 and Oct 2004, she received 305 units of platelet concentrates derived from 19 donors and 20 units of red cell concentrates derived from 15 donors.

One year after this intensive treatment, HBV was detected in her serum for the first time. Since she was HBsAg-negative at pretransfusion (August 2002), HBV transmission by transfusion was suspected. A pretransfusion specimen in September 2003 and 9 consecutive posttransfusion specimens were HBsAg (-), HBsAb (+), HBcAb (+) and HBV-DNA (-). All the stored specimens of the blood donors were negative for HBV-DNA. HBsAb reactivities of her specimens tended to decline and finally became undetectable in September 2005. Thus, it is highly likely that she had occult HBV infection in the pre-transfusion period and that her HBV was reactivated, probably by the chemotherapy and/or PB SCT.

Keywords:

Look-back study, Stored specimens of patients in pretransfusion, Reactivation of HBV, Occult HBV infection

輸血学

当院における輸血前・輸血後感染症検査実施のための取組みと日本の現状

Implementation of pre- and post-transfusion viral marker test in Asahikawa Medical College Hospital

輸血前後の感染症検査の歴史

1989年公表の輸血療法の適正化に関するガイドラインには、輸血後副作用や合併症が生じた際の原因調査と治療に役立てるため、患者血液と輸血血液のパイロット血液は、すくなくとも1~2週間、4℃程度で保存しておくこと、また、輸血後肝炎のフォローアップのため、最低3カ月間、できれば6カ月間程度、肝機能をフォローアップすることが望ましいと記載されている。

1999年公表の輸血療法の実施に関する指針では、患者血液と輸血血液のパイロット血液は2~3カ月間凍結保存しておくことが望ましいと変更され、輸血後肝炎に関してはウインドウ期供血者からの感染が問題となるため、輸血後

最低3カ月間、できれば6カ月間程度、定期的に肝機能検査と肝炎ウイルス関連マーカーの検査を行う必要があると改定された。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)についても同様の理由で、輸血後2~3カ月以降に抗体検査などを行う必要があるとされた。

2004年9月に改正された輸血療法の実施に関する指針¹⁾では、ウインドウ期供血者からの血液を用いた受血者の早期発見・治療のため、医師が感染リスクを考慮して輸血前・輸血後に肝炎ウイルスマーカーとHIV抗体検査を行うことが必要とされた。その半年後に公表された血液製剤などに関する選及調査ガイドラインでは、検査の疑陽性結果、潜在ウイルスの活性化などの有無を確認するため、輸血前検体を1ml程度、-20

℃以下で3カ月以上可能なかぎり(2年間を目安に)保管することが望ましいとされ、輸血によるウイルス感染症対策は指針の改定とともに厳格になってきた。

当院における輸血前後の感染症検査の実態

このような背景のもと、当院では1999年8月から交差適合試験の残余血清を約2年間凍結保存している。それに加え、2005年7月からは厚生労働省の指針¹⁾に基づき、輸血前後の感染症検査を実施している。当院での輸血前後の感染症検査実施手順を図1に示す。輸血予定の患者に対しては、特定生物由来製品(血液製剤)の説明と同意書を用いて輸血前に感染症検査を行うこと、輸血前検体の保存を行うこと、輸血後感染症検査を行うこと、輸血による感染が証明された場合は救済制度が利用できること、輸血後検査の実施時期はダイレクトメール(DM)で通知することなどを説明し同意を得ている(表1)。輸血部門では最終

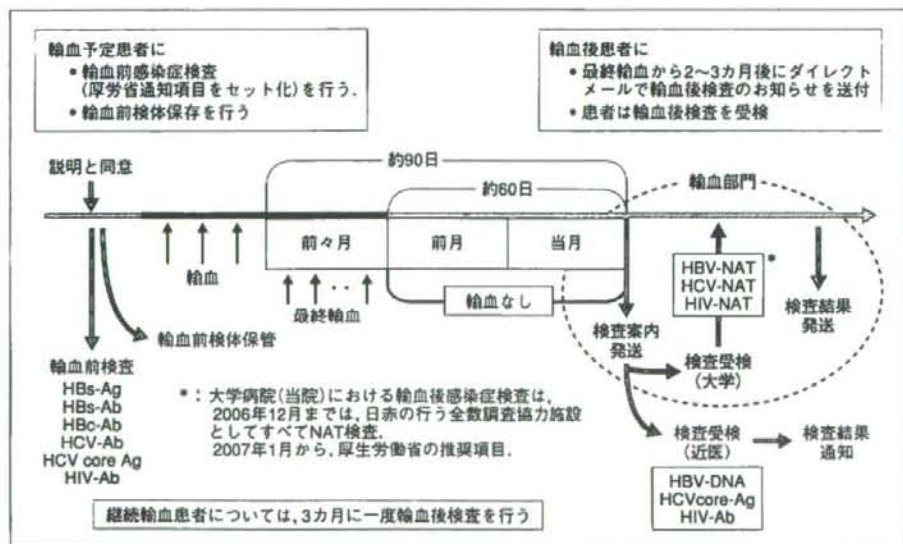


図1 輸血前後の感染症検査実施手順

表 1 輸血前後の感染症検査についての患者用説明文

6. 輸血前・輸血後の感染症検査について

輸血によるウイルス感染の危険性はゼロではありません。厚生労働省発行の「輸血療法の実施に関する指針」により、輸血前にあなたか肝炎ウイルスやエイズウイルスに感染しているか否かを検査します。また、あなたの輸血前の血液の一部を凍結保存し、不幸にして輸血によるウイルス感染症に罹った場合、その原因を明らかにするために用います(約2年間保存後、破棄します)。また、自己血輸血以外の輸血を受けられた方は、ご自身の健康管理のため、輸血後にウイルス感染の有無を検査することが推奨されています。輸血後2~3カ月経過したら、肝炎ウイルスやエイズウイルスの検査を受けて下さい。検査には健康保険が使えます。輸血が原因でウイルス感染症に罹ったことが証明できると、生物由来製品感染等被害救済制度による給付が受けられます。

なお、当院では、患者様の健康維持を考え、最後の輸血から約2~3カ月後に、病院に登録されている住所宛に輸血後感染症検査を封書でお知らせするサービスを行っています。ご案内が不要な場合は担当医までお知らせ下さい。

(旭川医科大学病院「特定生物由来製品(血液製剤など)の使用に関する説明と同意書」から抜粋)

輸血後2~3カ月経過した患者に対し、輸血後感染症検査のすすめを患者宛てに封書で送付し、輸血後検査の受検を促している。検査は当院でも近医などでも行えるように送付文に記載している。

輸血前検査では、厚生労働省通知に記載されているHBs抗原、HBs抗体、HbC抗体、HCV抗体、HCVコア抗原、HIV抗体検査をセット化している。セットを用いた輸血前検査の実施率は2005年下半年には約25%であったが、しだいに実施率は向上し、2007年上半年には約50%に達した²⁾。当院での輸血後検査実施率は、2005年下半年から半期ごとに見ると35~40%でほぼ一定であった。DMを送付した患者の当院以外での輸血後検査実施状況を知るために、2006年3月から12月までにDMを送付した患者344名に対しアンケート調査を行った。その結果、DMを受領した患者の約80%が輸血後感染症検査を受けていたことが判明した。

日本における輸血前後の感染症検査の現状と今後の課題

日本輸血・細胞治療学会が行っ

た2006年度の輸血関連総合アンケート調査では、約90%の施設で輸血前検体保存を、約70%の施設で輸血前感染症検査を原則として実施していた。HBs抗原、HCV抗体はほぼ100%の実施率であったが、HBs抗体(39.9%)、HbC抗体(35.1%)、HCVコア抗原(30%)、HIV抗体(49.8%)の実施率は50%に満たなかった。輸血後感染症検査を原則的にすべての患者に対して実施していると回答した施設は40%程度であったが、実際に検査を受けた患者の割合は調査されていない。各施設での輸血後検査実施率を50%と高めに見積もっても、輸血後患者の約20%しか検査を受けていないことが推測できる。

輸血後検査実施率向上のためには、患者や主治医に対し検査の適切な時期を伝達する方法を確立することが要点となる。さまざまな実施法が報告されているが、それぞれに一長一短があり、各施設に適した方法をつくり上げることが必要であろう。最近、公表された輸血前後の感染症マーカー実施のマニュアルでは、輸血前検体保存と輸血後検査の重要性が強調されている³⁾。輸血患者の安全性確保のために、輸血を受けたすべての

患者に輸血後検査が行われる必要がある。そして、不幸にして輸血後感染症が発生した場合に生物由来製品感染等被害救済制度を適用するためには、輸血との因果関係を明確に証明しうる核酸増幅検査施行可能な輸血前検体が保存されていることが必須である。

- 1) 厚生労働省医薬食品局長通知、薬食発第0917005号：血小板製剤の使用適正化の推進及び「輸血療法の実施に関する指針」の一部改正について、平成16年9月17日付、2004。
- 2) 紀野修一・他：旭川医科大学病院における輸血前・輸血後感染症検査の実態、日本輸血・細胞治療学会誌、(投稿中)
- 3) 熊川みどり・他(日本輸血・細胞治療学会輸血感染症対策タスクフォース)：輸血前後の感染症マーカー検査についての日本輸血・細胞治療学会選川マニュアル、日本輸血・細胞治療学会誌、53：602-606、2007。

紀野修一/Shuichi Kano
旭川医科大学病院臨床検査・輸血部

輸血事故防止のための院内体制整備

友田 豊¹⁾/紀野修一²⁾/森 清香³⁾/花田大輔³⁾/武田 悟⁴⁾/伊藤喜久⁵⁾

(SUMMARY) 輸血事故を防止するためには、日常業務において、どのような作業時に、どのようなミス発生危険性があるのかを知ることが重要である。そのためには、輸血の準備から終了までの一連のプロセスを細かく分解し、それぞれの場面でどのようなミスが発生するのか分析することが重要となる。輸血事故やインシデントの多くは、ルールどおりに作業を行わないことにより発生する。これを予防するためには、マニュアルの作成とその実行が要となる。同時にセイフティネットとしてルールを無視すると次の作業に進めないような総合的な仕組みを作り、検査プロセスの中で起こりうるミスとその対策、予防、さらにチェックポイントを示し、安全な輸血業務を進める指針を示すことが重要である。
〔臨床検査 52：169-175, 2008〕

(KEYWORDS) インシデント分析、コンピュータ照合、輸血チェックカード

はじめに

輸血を行う医療機関にとって、絶対に避けなくてはならない事故の一つに、ABO型不適合輸血が挙げられる。ABO型不適合輸血は、医療環境が十分に整備された病院であっても発生しており(表1)、これをなくすために各病院の輸血部門や安全管理部門などは様々な対策をとっている。

本稿では、輸血事故を防止するためには、日常

業務において、どのような作業のときにどのようなミスが発生する危険性があるのか検証することで、輸血の安全体制を考えていきたい。

インシデントから学ぶ

輸血のプロセスには、医師が患者に輸血をすることを決めた時点から、輸血を実施し終了するまでに、何人もの医療従事者が介在する。この輸血の一連の流れを細かく分解し、各プロセスごとに、「どんな場面で人はミスを起こすのか」、「どのようにして人は誤るのか」を詳しく分析することが、安全対策を立てるうえで重要である。

以下に、日本輸血学会のABO型不適合調査で報告されたミスや実際のインシデントをもとに、

表1 ABO型不適合輸血の原因 [文献1]より引用

バッグの取り換え	71件(42.8%)
血液型判定ミス	25件(15.1%)
患者の取り換え	19件(11.5%)
輸血依頼伝票への誤記	14件(8.4%)
カルテの血液型確認ミス	8件(4.8%)
カルテに血液型の誤記録	5件(3.0%)
患者検体の取り換え	4件(2.4%)
添付ラベルへの血液型の誤記	2件(1.2%)
輸血依頼伝票の血液型の確認ミス	2件(1.2%)
その他	5件(3.0%)
不明	11件(6.6%)

ABO型不適合輸血実態調査(日本輸血学会 2006年6月8日)

- 1) TOMODA Yutaka 旭川医科大学病院臨床検査・輸血部 輸血・細胞療法部門・主任臨床検査技師
 2) KINO Shuichi 同・副部長
 3) MORI Sayaka, HANADA Daisuke 同・臨床検査技師
 4) TAKEDA Satoru 同・技師長
 5) ITO Yoshihisa 同・部長

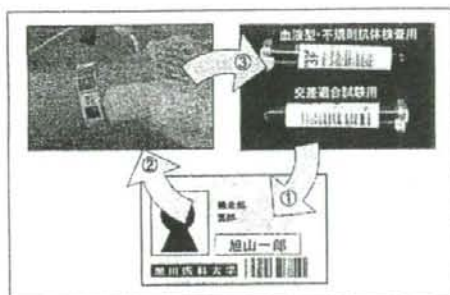


図1 採血時の照合

①採血を行う医療スタッフのIDを読み取る。②患者リストバンドのバーコードを読み取る。③最後に採血管のバーコードを読み取る。

院内における輸血の安全対策を確保するための対策を述べる。

1. 輸血を依頼(オーダー)するとき

1) 起こりうるミス

- (1) 血液型を誤って依頼する
- (2) 単位数を誤る(2単位を2日連続輸血、4単位を2日間で輸血など)

・輸血依頼伝票への誤記	14件(8.4%)
・輸血依頼伝票の血液型の確認ミス	2件(1.2%)

(表1の抜粋)

2) (1)の対策

[コンピュータによる輸血オーダーを利用している施設]

輸血用血液のオーダー時に、血液型入力を求めるシステムでは入力ミスが起こりうる。輸血依頼時に血液型を入力しなくてもよいシステムにしておくことと入力ミスは発生しない。そのため、オーダー画面には、病院情報システムに登録されている患者の血液型を、輸血する血液型として自動的に表示させることが必須である。骨髄移植患者などで本人のもともとの血液型と違う血液を輸血する場合には、あらかじめシステムに輸血に用いる血液型を登録しておくこと、誤った型の血液をオーダーするミスを防止できる。

[伝票で運用している施設]

輸血依頼伝票を記入する際には、診療録、病院システムの患者基本情報などで患者血液型を必ず

確認することを基本とし、徹底する。

誤った血液型の製剤依頼を予防するため、伝票を輸血部に提出する前に、病棟で他の医療スタッフがその記載内容を再確認する。

3) (2)の対策

誰もが一意に理解できる表示とするため、数量の記載方法を院内で統一する。一伝票一製剤の依頼とし、1日に輸血する量しか記載しないことを徹底する。2日間にわたって輸血を行う場合は、それぞれの使用日ごとに依頼伝票を作成する。

2. 採血を行うとき

1) 起こりうるミス

- (1) 採血管ラベルと違う患者の採血を行ってしまう

・患者検体の取り換え	4件(2.4%)
------------	----------

(表1の抜粋)

2) 対策

[あらかじめ採血管にラベルを貼っている場合]

- ・採血管ラベルの氏名をよく確認する。
- ・輸血検査の採血は必ず一患者ごとに行う。
- ・採血前に患者に氏名を名乗ってもらい採血管ラベルの氏名と照合する。

コンピュータによる照合システムが稼働している場合には、採血時に、患者リストバンドと採血管のバーコードを携帯端末等で照合をする。

図1は、当院で行っている採血時の照合である。携帯端末を用いて、①採血を行う医療スタッフのID、②患者リストバンドのバーコード、③採血管のバーコードを読み取る。採血管が採血される患者のものであれば警告が表示される。

患者に装着されたりリストバンド以外の物、例えばベッドネームや診療録に印刷されている患者IDのバーコードなどを患者のリストバンド代わりに流用して照合する場合もみられるが、ICUなどで患者がベッドから離れることがない場合などに例外的に許されるものである。一般病棟では、患者本人の確認がなされないことがあるのでリストバンド以外との照合を絶対に行わない。過去に、患者がベッドごと部屋内で場所移動をし、壁に貼付されたネームプレートの移動を忘れたことによるインシデントが報告されている。

〔採血後にラベルを採血管に貼る場合〕

採血後、患者と採血者の2人でラベルの氏名を確認し、速やかに採血管に貼りつける。また採血予定本数と実際に採血を行った本数に過不足がないことを確認する。

3. 検査と結果報告を行うとき

1) 起こりうるミス

- (1) 誤判定
- (2) 異常反応(部分凝集反応など)の見逃し
- (3) 判定結果の誤記入(誤入力)

・血液型判定ミス	25件(15.1%)
・患者検体の取り違い	4件(2.4%)
・添付ラベルへの血液型の誤記	2件(1.2%)
・輸血依頼伝票の血液型の確認ミス	2件(1.2%)

(表1の抜粋)

2) 原因

血液型検査には多くの作業工程があり、それぞれにミスが発生するリスクを含んでいる。多くは、単純ミス、うっかりミスによるもので、検査者の集中力や注意力の低下や知識不足などにより発生する。

試験管法で検査を行う場合、遠心後の患者血液を、血清(血漿)と血球に、それぞれ別試験管に小分けする必要がある。この作業で検体取り違いのミスが発生しやすい。試験管への氏名の誤記、血球の取り違いが主たる原因となる。

3%濃度の血球浮遊液の調整が不適切であると、凝集反応の減弱を招き判定を誤りやすい。

弱い血球凝集反応や部分凝集の検出には熟練を要するため、輸血検査に不慣れな技師では見誤る可能性がある。

半自動の分注機を用いる方法では、全血検体を遠心した状態で検査するため、サンプル検体の小分けによるミスや各種試薬の分注ミスは減るが、カラムカセットへの氏名誤記や別人のカラムカセットを誤ってセットするなどのミスは発生する。

3) 対策

- (1) 輸血検査の自動機器を導入(可能であれば人が検査し判定することを避ける)
- (2) 輸血管理システムの導入
自動機器では、定期的に精度管理を行う仕組み

になっているので、部分凝集の検出や凝集判定は常に一定レベルに保たれる。検査に慣れた技師であっても、血液型の誤判定や誤記入(誤入力)は一定の頻度で発生しうるため、機器が自動判定し、結果をオンラインで輸血システムに転送する方式が望ましい。

自動入力であっても手入力であっても最新の検査結果は、過去の検査結果と照合することが必要である。

手入力を行わなくてはならないときには、入力する検査結果が過去の検査結果と照合され、結果が異なる場合には警告が表示されることが、安全対策上必要である。入力は2人以上で確認しながら行うことを原則とする。

4. 交差適合試験を行うとき

1) 起こりうるミス

- (1) 初めての血液型検査検体で交差適合試験を同時に実施してしまう
- (2) 交差試験用患者血液の血液型確認を怠る
- (3) 不規則抗体保有患者にランダムに血液を割り当てて交差適合試験を行う
- (4) 不規則抗体保有患者の輸血準備に血液バッグの抗原陰性を確認しない

2) (1)の原因と対策

初めての血液型検査検体で交差適合試験を行ってはいけない。その理由は、採血時の患者誤認、もしくは採血管に別患者のラベルを誤貼付している可能性を考慮するためである。当院でも採血ミスにかかわるインシデントは年に1~2件報告されている。輸血を実施するまでに、時間を変えて最低2回採血をし、2回とも同じ結果であれば、患者の血液型を確定できる。

コンピュータによる輸血管理システムでは、血液型検査が初回なのか2回以上行われているかを管理できるようにしておく必要がある。また、交差適合試験を行う前にもABO血液型を必ず確認する手順にしておく必要がある²⁾。

3) (2)の原因と対策

別人の採血が患者の交差適合試験用として提出されている可能性があるため、血液型検査を何度も行っている患者でも、交差適合試験のたびに血液型検査は必要である。

交差適合試験に際しては、ワークシートなどに

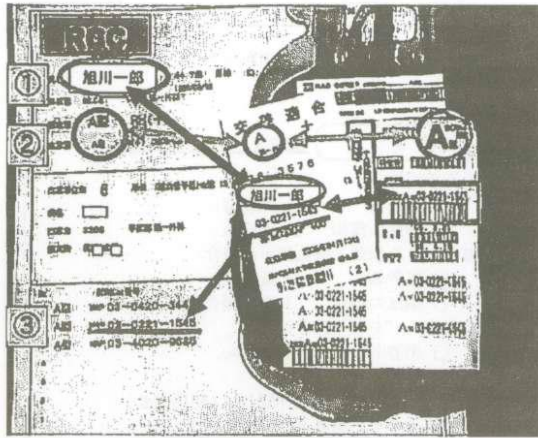


図2 伝票、適合票、血液バッグの照合

①患者氏名を照合、確認する、②血液型を照合、確認する、③血液製剤のロット番号を照合、確認する。

交差適合試験用患者血液の血液型を記載する欄を設けることで、血液型検査の忘れを予防できる。また、自動機器で交差試験を行う場合には、必ず血液型検査が行われるように検査セットを組んでおく必要がある。

4) (3)の原因と対策

抗体価の低い不規則抗体では、輸血バッグ内の赤血球抗原がヘテロ接合だった場合、交差適合試験で凝集反応が捕らえられない可能性がある。この場合、この血液を輸血すると患者の免疫担当細胞は抗原を認識し、すぐに大量の抗体を産生して遅発性溶血性輸血副作用を起こす危険性がある。

患者へ輸血用血液を割り当てる際には、過去に検出された不規則抗体情報を参照し、対応抗原が陰性である血液を供給することが必要である。

5) (4)の原因と対策

抗原陽性の血液で交差適合試験を行ったとしても、患者の保有する抗体価が低下している場合には十分な凝集反応がみられず適合と判定されることがある。そのため不規則抗体保有患者では、用いる血液バッグの赤血球抗原が陰性であることを確認することが必要である。たとえ血液センターから抗原陰性血液を購入したとしても、患者に血液バッグを割り当てるときに取り違える可能性があり、過去に不規則抗体の保有が判明している患者では、交差適合試験と抗原確認検査をともに行う必要がある。

5. 輸血用血液の出庫を行うとき

1) 起こりうるミス

- (1) 血液バッグに添える交差適合票などを別患者のものと同間違える
- (2) 一患者に複数の血液バッグを準備するときに交差適合票などを入れ間違える
- (3) 出庫伝票に記載された血液バッグとは違うバッグを伝票と一緒に出庫する
- (4) 放射線照射の確認を忘る

2) 対策

交差適合試験合格の血液バッグと交差適合票、出庫伝票を対応づけ、コンピュータで管理する。出庫時には、各々のバーコードを照合する。

コンピュータシステムが導入されていない場合は、2人以上で声をだして氏名、血液型、ロット番号、数量の確認を行う(図2)。

血液バッグに添付する交差適合票や出庫伝票などを手書きしている場合は、誤記入が発生する可能性がある。そのため、別のスタッフによる確認が必要となる。交差適合票や出庫伝票などは、輸血管理システムから出力されることが望ましい。

放射線照射日を輸血管理システムに登録しておく、出庫時にシステムが自動的に照射の有無をチェックする仕組みを作っておく。また、照射されていることが確認できるシールを血液バッグに貼り付けておく。

6. 血液を病棟に受け渡しするとき

1) 起こりうるミス

- (1) 誤った病棟に血液を配送する
- (2) 誤った日付に配送する(明日の輸血を前日に配送してしまう)
- (3) 誤った数量を配送する(過不足、2日分を一度に配送)

2) 対策

コンピュータシステムが導入されている場合、病棟で血液を受け渡しするときには、必ず血液バッグ、交差適合票、出庫伝票のバーコードで受領の照合を行う。

コンピュータ照合システムが導入されていない施設では、確認事項を列記した輸血チェックカード(図3)などを用いて受領の確認を行う。最後に確認者のサインを行うことで、ミスを減らさうる。

患者名 _____

1. 受領時チェック

実施者 _____

- 患者の血液型をカルテまたは患者基本情報で確認
 - 申し込み伝票の血液型に間違いはないか
- 血液バッグの血液型、Lot Noと単位数を伝票と照合
 - 伝票と同じものか
 - 過不足はないか
- 血液バッグについている、カードの照合
 - カードの氏名と患者名は同じか
 - カードの血液型と血液バッグの血液型は同じか
 - カードのLot Noと血液バッグのLot Noは同じか
 - 有効期限

3. 輸血実施中チェック

実施者 _____

- 注入速度は指示どおり
(参考) 開始10~15分 約1ml/分 (15滴)
開始15分以降 約1~5ml/分 (60滴)
 - 血液の温度は適切
 - 他の注射剤、点滴と混合していない
 - 患者に変化はない
悪寒、発熱、発疹、痛み、血圧低下、意識レベルの低下
- ※ 輸血開始の15分間は、急性反応をチェックする

2. 輸血直前チェック

実施者 _____

- 輸血指示の確認
 - 患者名
 - 血液型
 - 輸血の種類
 - 単位数
 - 輸血申し込み伝票と輸血指示の照合
 - 患者名
 - 血液型
 - 輸血の種類
 - 交差適合試験
 - 血液にカードを張り付け確認
 - 患者名
 - Lot No
 - 有効期限
 - 放射線照射の有無 (未照射血は使用禁止)
 - ベッドサイドでの患者と血液型の確認
 - ベッドに表示してある氏名を確認
 - 患者本人に呼びかけて氏名確認 (意識のある人)
 - 血液バッグの氏名、血液型を確認
- ※5を複数 2本目 3 4 5 6 7 8 9 10

4. 輸血副作用確認

実施者 _____

- なし
- あり (輸血部に副作用報告を提出してください)
 - 悪寒
 - 発熱
 - 発疹
 - 痛み
 - 血圧低下
 - 意識レベルの低下
 - その他

確認作業終了後は、カルテに貼付してください

図3 旭川医科大学病院の輸血チェックカード

7. 患者に血液バッグを接続するとき

患者に血液バッグを接続する場面は、不適合輸血を防止する最終関門である。特にしっかりとした安全対策をとることが必要である。

1) 起こりうるミス

- 血液バッグを取り違える
- 輸血患者を間違える
- 輸血する単位数を間違える

・バッグの取り違い	71件(42.8%)
・患者の取り違い	19件(11.5%)

(表1の抜粋)

2) 対策

輸血の準備と接続は、一患者ごとに行うことを徹底する。複数名分を一度に行ってはいけない。

輸血接続時に患者に氏名を名乗ってもらい、一緒に血液バッグの血液型、伝票を確認する。

コンピュータ照合システムが導入されている施設では、血液バッグと患者リストバンドのバーコードを照合し、正しい製剤であることを確認する



図4 血液バッグを接続するときの照合

①血液バッグのバーコードを読む、②患者リストバンドのバーコードを読む、③輸血開始の確認画面、④輸血セットを患者につなぐ、⑤交差試験が完了していないなどの不備があった場合には、どのような不具合が起きているのかを示す警告が画面に表示される。

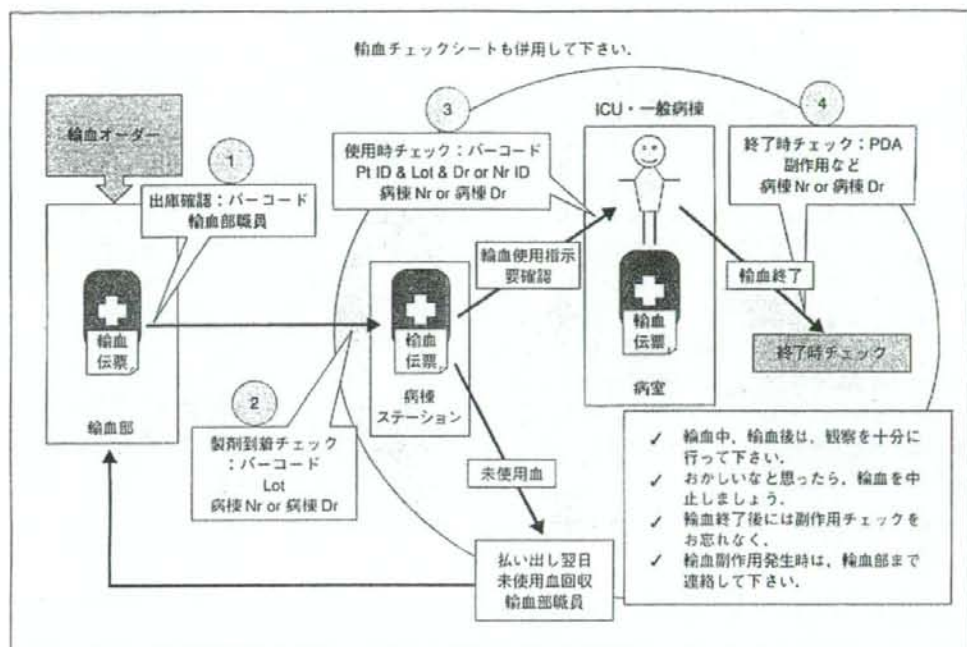


図5 輸血オーダー：バーコードチェックのタイミング(病棟払い出し)

(図4)。

輸血オーダーが導入されていない施設では、輸血チェックカード(図3)などを利用して輸血実施時の内容を確認する。

照合が必要なチェックポイント

輸血を行う一連のプロセスのなかで、照合や確認が必要な箇所(チェックポイント)がいくつかある。図5は、当院が各病棟に配布しているバーコード照合が必要なチェックポイントを示したイラストである。

最初のチェックポイント①は、血液バッグが輸血部を出るときであり、ここでは出庫伝票、交差適合票、血液バッグの3点を照合している(図2)。

次のチェックポイント②は、血液バッグが病棟に届いたところである。使用部署の端末で血液を受け取ったスタッフのIDと血液バッグのバーコードを入力すると、このバッグを輸血する患者名

が表示され、同時にコンピュータには病棟に血液バッグが届いた記録が残される。もし、違う病棟の患者用血液バッグを受け取った場合には、警告が表示される。

次のチェックポイント③は、患者に血液バッグを接続するときである。当院の照合手順(図4)は、携帯端末を用いて、血液バッグを接続する医療スタッフのID、血液バッグのバーコード、患者リストバンドのバーコードを読み取り、3者が正しく照合されると、輸血開始の確認画面が表示される。開始入力で輸血開始時刻が電子カルテに記録される。もし、他の患者用の血液バッグを輸血しようとしたり、交差試験が完了していないなどの不備があった場合には、どのような不具合が起きているのかを示す警告が画面に表示される。

最後のチェックポイント④は、輸血終了時である。輸血が完了した時に接続時と同じ照合を行うことで、輸血の終了時間が電子カルテに記録され、あわせて輸血副作用発生の有無をチェックする。

当院では、コンピュータ照合を実施している

が、導入から年数が浅く、すべて正しく行われているかをまだ把握できていないため、以前からの紙による輸血チェックカード(図3)を併用して安全性を確保している。将来的にはこのチェックカードを廃止する方向である。

コンピュータによる照合システムが導入されていない施設では、輸血依頼から実施までの一連のプロセスで、その時々重要な確認事項を列記した輸血チェックシート(図3)のようなものを作り、該当する項目を確認するごとに確認者のサインを入れる。このシートが輸血伝票と一緒に各部署を巡るようにすると、このシートを伝達するときにチェック漏れを見つけやすくなる。また、当事者は、何と何を照合し、確認すべき項目は何であるのかを明確に意識できる。

おわりに

輸血事故やインシデントの多くは、マニュアルあるいは決められたルールどおりに作業を行わないことにより発生する。これを予防するためには、持続的なマニュアル作成とこれに従っての日常業務の励行、ルールを無視すると次の作業に進めないような仕組みを作ることが重要である。また、輸血事故防止のためには、院内で起きたインシデントを分析して、ミスが起こりそうな状況を1つずつ排除していくことも重要である。そのうえで、万が一ミスが起きても第三者がすぐに見発できる体制を構築することが重要である。

輸血実施の手順については、日本輸血・細胞治

療学会がイラストで示している「図解 輸血実施手順書」⁴⁾、輸血ミス防止のためのチェックポイントについては、「図解 輸血過誤防止のチェックポイント」⁵⁾を参考にされたい。

日本輸血・細胞治療学会のI & A委員会が作成しているI & Aチェックリスト第3版⁶⁾には、輸血を安全に行ううえで必要な項目が詳細に記載されている。このチェックリストを用いて院内の状況をチェックすることで、安全な輸血管理体制を築くために必要な改善点が明らかになる。

文 献

- 1) 柴田洋一、稲葉瑠一、内川誠、他：ABO型不適合輸血実態調査の結果報告。日本輸血学会誌 46：545-564、2000
- 2) 厚生労働省医薬食品局血液対策課：輸血療法の実施に関する指針(改訂版)、2005
<http://www.mhlw.go.jp/new-info/kobetu/iyaku/kenketsugo/5tekisei3.html>(2007年10月21日現在)
- 3) 厚生労働省医薬食品局血液対策課：血液製剤の使用指針(改訂版)、2005
<http://www.mhlw.go.jp/new-info/kobetu/iyaku/kenketsugo/5tekisei3.html>(2007年10月31日現在)
- 4) 日本輸血・細胞治療学会：輸血実施手順書、2001
<http://plaza.umin.ac.jp/~jsbt/manual/main.html>(2007年10月31日現在)
- 5) 日本輸血・細胞治療学会：輸血過誤防止のチェックポイント、2000
<http://plaza.umin.ac.jp/~jsbt/manual/main.html>(2007年10月31日現在)
- 6) 日本輸血・細胞治療学会：I & A、2003
<http://plaza.umin.ac.jp/~jsbt/committee/landA/index.html>(2007年10月31日現在)

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

臨床検査データブック2007-2008

監修 高久史郎
編集 黒川 満・春日雅人・北村 聖

●B6 頁992 2007年
定価5,040円(本体4,800円+税5%)
[ISBN978-4-260-00341-4]

大好評の「2005-2006」年版に続いて、読者の要望を可能な限り紙面に反映し、新規保険収載項目の追加、項目の見直し、総論や検査計画に関する記述を充実させるなど、盛り沢山の改訂。必要な検査と無駄な検査を区別する全医療関係者必携の検査値判読マニュアルが、さらに強力になって登場。『考える』検査をレポートする1冊。