

生理食塩水の pH 変動における輸血検査結果に与える影響

井上遙菜¹⁾、源間紗奈¹⁾、酒井苑夏¹⁾、川村宏樹¹⁾

1) 新潟医療福祉大学 臨床技術学科

【背景・目的】 輸血検査の目的は適正な方法を用いて適合血の選択をおこない、患者からの不適合輸血による溶血性輸血副作用を防止することである。輸血検査の凝集に影響する因子として、温度・濃度・混和などがあるが pH も重要とされている。輸血検査で必ず使用される試薬として生理食塩水(生食)があり、市販されている各社の生食は NaCl 濃度が 0.85~0.9%の規定はあるが、pH の許容範囲は広範囲である。

輸血検査のガイドラインには、作成した生食にリン酸バッファーを加え pH を凝集反応に適切な pH 7.3 に調節することが推奨されている。ほとんどの施設で生食は作成しているが pH は調整していない場合が多い。これらから、施設間で pH 変動の凝集強度に与える影響が疑問視される。このような生食を pH 4.5~8.0 の範囲で安定せず使用した場合、輸血検査にどのような影響があるかは不明確である。そこで本研究は生理食塩水の pH 変動における輸血検査結果に与える影響を検討して、輸血後副作用の軽減に寄与する方法を模索する。そして、輸血検査において最も使用する生理食塩水の理の重要性を明らかにすることにより、検査結果の安定を目的とする。

【方法】 対象は健常人の大人 10 人を対象とした。なお、検体提供に協力して頂いた方には、事前に研究内容を説明し承諾を得ている。

pH が異なる生理食塩水の作成:生食を蒸留水と NaCl で 0.9%の塩濃度で作成する。0.2 M NaH₂PO₄ (A 液) と 0.2 M Na₂HPO₄ (B 液) を比率を変えて混ぜることにより、種々の pH のリン酸バッファー (PB) を作成する。この PB と生食を混合することで、pH 4.5、pH 7.3、pH 8.0 の生食を作成する。

pH 4.5、pH 7.3、pH 8.0 の 3%赤血球浮遊液で、ABO 血液型オモテ試験と Rh 血液型試験を実施して、pH 7.3 の赤血球浮遊液に対して pH 4.5 と pH 8.0 の赤血球浮遊液の凝集強度の変動を比較検討する。なお ABO 血液型オモテ試験と Rh 血液型試験は、日本輸血・細胞治療学会輸血検査技術講習委員会から推奨されている「輸血のための検査マニュアル Ver. 3.1」に準じておこなう。

なお、本研究は新潟医療福祉大学倫理委員会の承認 (18285 - 190918) を受け、関連する利益相反はない。

【結果】 1. 自作生理食塩水と市販生理食塩水の pH 測定ははじめに、自作生理食塩水 3 ロットと A 社の市販生理食塩水 7 ロットの pH を測定した。自作の生食の平均は pH5.45

で、A 社の生食の平均 pH5.58 であった。この中で、最低値 pH は 5.38、最高値は pH6.02 とばらつきがあった。

2. ABO 血液型検査に与える pH の影響

PB を使用し、生食 (pH5.5) を pH 4.5、pH 7.3、pH 8.0 に調整した PBS を用いて、3%赤血球浮遊液を作製して ABO オモテ検査をおこなった。その結果、A 抗原と B 抗原の凝集強度に変化は認められなかった。

3. RhD 検査に与える pH の影響

次に、RhD 検査をおこなった。その結果、pH 7.3 に比べて pH4.5 は、全ての検体で凝集の減弱が認められ、生食は 1 検体で減弱、pH8.0 は 1 検体で増強が認められた。

4. RhC 検査と Rh⁻c 検査に与える pH の影響

RhC 検査と Rh⁻c 検査をおこなった。その結果、C 抗原では pH 7.3 に比べて pH4.5 と生食は凝集強度が減弱傾向にあり、pH8.0 は 1 検体で増強であった。⁻c 抗原では pH 7.3 に比べて pH4.5 では 4 検体の凝集減弱と 1 検体溶血が認められた。生食は凝集強度が減弱傾向にあり、pH8.0 は 1 検体で増強が認められた。

5. RhE 検査と Rhe 検査に与える pH の影響

RhE 検査と Rhe 検査をおこなった。その結果、E 抗原では pH 7.3 に比べて pH4.5 では 4 検体の凝集減弱と 2 検体溶血が認められた。pH8.0 は 1 検体で増強であった。e 抗原では pH 7.3 に比べて pH4.5 では全ての検体で凝集減弱とそのうち 2 検体溶血が認められた。生食と pH8.0 でも凝集強度が減弱傾向であった。

【考察】 今回我々は、各種 pH の PBS で 3%赤血球浮遊液を作製して生理食塩水法による血液型抗原検査への影響を検討した。その結果から、RhD、RhC、Rh⁻c、RhE、Rhe の各抗原において pH7.3 より低い PBS は凝集強度が減弱する傾向が認められた。特に pH4.5 だと溶血も伴い著明な凝集強度の低下が認められた。この結果は今回検討した全ての Rh 系抗原検査に共通していたことから、3%赤血球浮遊液の pH は Rh 系の各抗原特異的な反応ではなく、Rh 系全ての抗原抗体反応に共通して影響することが明らかになった。今回の検討から、2つの疑問が導かれた。1つ目は、pH が低い PBS を利用した 3%赤血球浮遊液は、実際の浮遊液中の pH は低いのか。2つ目は、3%赤血球浮遊液と各 Rh 系の抗体を反応させたときの反応液中の pH は低いのか。これら 2つの疑問が明らかにされると凝集強度の減弱は、pH の低下により Rh 系抗原の変性が原因か反応条件が原因かが明確になるであろう。

【結論】 市販の生食の pH は平均 5.5 程度であるが、PB (pH7.3) や PBS (pH7.3) を生食の 1/10 量添加することによって pH を 7.3 付近にすることが出来る。pH を調整した生食は簡易に作製することが可能で、これを用いて 3%赤血球浮遊液を作製すれば生理食塩水法による血液型抗原検査への影響を抑制することができる。