

「ろ紙血の採取法・採血時期・保存法」の改訂版の発行について

一般社団法人日本マススクリーニング学会

1961年にガスリー博士により考案された、新生児マススクリーニング（以下 NBS）の検体としてろ紙血を用いる方法は、安定性に優れかつ定量性もあることから全世界に普及した。日本マススクリーニング学会では 1998 年に「ろ紙血の採取法・採血時期・保存法」を発表するとともに、採血方法・保管等も精度管理上重要であることを指摘した¹⁾。その後、2014 年度より全国的にタンデムマス法が導入され、現在対象疾患は 20 疾患と増加している。さらに、治療法や検査技術の進歩に伴い、脊髄性筋萎縮症、重症複合免疫不全症さらにはライソゾーム病や副腎白質ジストロフィー症などが新規 NBS 対象疾患として注目されている。

このような状況の変化を踏まえ、「ろ紙血の採取法・採血時期・保存法」の改訂版を作成したので報告する。

1) 採血方法

(1) 採血ろ紙

これまで、国内では東洋濾紙製専用ろ紙 No. 545 が用いられている。一方米国では、食品医薬品局（Food and Drug Administration）で承認され、疾病予防管理センター（Centers for Disease Control and Prevention）で品質の検定も受けている Cytiva 製ろ紙「Whatman™ 903 Proteinsaver カード」（ろ紙グレード：CF12）と Revvity（旧 PerkinElmer）製ろ紙 No. 226 が用いられている²⁾。これらはいずれも東洋濾紙製 No. 545 と同等の品質であると報告されているので、国内での使用も可能と考えられる³⁾⁴⁾。

ろ紙の選択に関しては自治体の判断となるが、精度管理上の観点からは従来の東洋濾紙製 No. 545 との比較性能試験を実施することが望ましい。将来、複数のろ紙が使用される場合には、226, 545, 903 などのろ紙品質番号を採血用ろ紙に明記すべきである。

(2) 採血器具

穿刺に用いる器具として、以前よりランセット、注射針などが用いられてきたが、安全面からは、新生児・乳児用微量採血用穿刺器具*の使用が推奨される²⁾。

* 新生児・乳児用微量採血用穿刺器具

穿刺後、刃は自動的に格納されるため、針刺し損傷や交差感染のリスクを軽減でき、また穿刺深度が一定なので骨髄炎等を防ぐことが期待できる（2024 年 5 月時点では BD マイクロテイナ®クイックヒール™ ランセット、テnderフットなどの製品が市販されている）。

(3) 採血

a. 採血ろ紙の準備：採血前に氏名等必要事項を採血ろ紙に記入し、採血にあたっては記入した氏名と乳児氏名の確認照合を行う。

b. 消毒：採血部位をアルコールもしくはグルコン酸クロルヘキシジンで十分消毒し、乾燥させた後穿刺する。

c. 穿刺：足底穿刺が推奨される。穿刺部位は踵骨を避けて、かかとの外側部または内側部を穿刺する（図1）。かかとの後部及び中央部採血では踵骨骨髓炎、深部血管の損傷、あるいは癒痕形成による歩行障害などの合併症を引き起こす可能性があり、避けるべきである。

成熟児では穿刺深度は 2mm 以内とする。低出生体重児の場合、穿刺の深さは 0.85mm 以内が望ましい²⁾。

d. 採血：出始めの血液は清潔なガーゼでふき取る。足を水平もしくは下向きに保ち、足底全体から血液を集める様に軽くしぼる要領で十分量の血液滴を作る。採血ろ紙に印刷されている 4 つの円に、片方から血液を滴下させ裏面まで十分しみ込ませる。印刷された円を超える程度の大きさが目安である（図2）。ろ紙が足底の皮膚に直接触れないように注意する。

一度血液を付けたところに再度重ねて付けたり、裏表から付けたりする（2度つけ）と正確な定量検査が出来なくなる。一方、採血量が不足すると検査が不正確になるだけでなく、一部の検査が出来ないため再採血の必要性が生じる。従って十分量の血液滴を作ってから、血液をろ紙に滴下させることが肝要である。印刷された円を超える大きさが目安であるが、円一杯にならない場合でも二度付けすることは避ける⁵⁾。検体採取後、穿刺部位は清潔なガーゼで圧迫止血する。

e. 注射器、キャピラリーチューブ採血：血液採取中に凝固、血清分離が生じない様速やかに採血をする必要がある。抗凝固剤を含有したろ紙血検体は、検査法によっては測定系の反応を阻害することがあるので、ヘパリン、EDTA は使用しないことを推奨する²⁾。血液ガス分析検体用のキャピラリー採血管は抗凝固剤が入っている製品が多いので注意が必要である。

<参考動画>

以下のサイトより、標準的なろ紙血採取法の動画が視聴可能である。

https://www.yobouigaku-tokyo.or.jp/baby/medical_page_faq.html

公益財団法人東京都予防医学協会HP 公費による先天性代謝異常等検査に関する Q&A

→ Q 採血の正しい方法を教えてください。

→ 新生児マススクリーニング 検体作成の方法と注意点

<https://www.almeida-hospital.com/teamintroduction03.html>

大分市医師会立アルメイダ病院 HP 臨床検査部 下段 → 【新生児マススクリーニング検査室】

→ 標準的な採血法のビデオはコチラから

2) 採血時期

(1) 正常新生児採血：原則として、日齢4～6（出生日を日齢0とする）とするが、日齢4が推奨される。哺乳後2時間前後、出来れば皮膚の温まった沐浴後が良い。極端に哺乳量が少ない場合は、回復後2回目の採血を考慮する**。

(2) 低出生体重児採血：出生体重 2,000g 未満の低出生体重児の場合、原則的に日齢4～6で1回目の採血をし、さらに、①生後1か月、②体重が2,500gに達した時期、③医療施設を退院する時期のいずれか早い時点で、1回目の検査の結果にかかわらず、2回目の採血を実施することが望ましい。出生時体重2,000g以上の児の採血については、成熟児と同様に行う⁶⁾。

(3) ハイリスク新生児：出生後に嘔吐、哺乳不良、けいれん、傾眠などの“not doing well”の症状を呈する新生児の中には、先天性副腎過形成症や有機酸代謝異常症・尿素回路異常症が含まれている可能性も考えられるので、早期に臨時採血を行う。更にその後、定時採血を行うことが望ましい。

** 哺乳状況の「良」、「不良」について：

母乳育児が推奨される中、新生児の哺乳量を把握するのは難しく、学会として哺乳状況などのガイドラインは作成していない。通常、哺乳開始から72時間以上継続して哺乳されている場合、2回目採血は不要と考えられるが、判断は産科医療機関に委ねられている。ただし、哺乳というのは母乳あるいは人工乳を摂取することであり、糖水は含まれない。自治体によっては採血マニュアルを作成し、おおよその目安を定めているところもある。

<参考となるサイト>

<https://tandem-ms.or.jp/advice>

タンデムマス・スクリーニング普及協会 HP のコンサル医師団・技師団のアドバイス事例

→その他→▽産婦人科・助産師等の採血機関の方へ

→ろ紙の哺乳状況の記載内容について

<https://www.city.sapporo.jp/eiken/index.html>

札幌市衛生研究所 HP 病気の集団検査（マススクリーニング）

→新生児マススクリーニング→マススクリーニングニュース

→第19号:1.哺乳状況による検査の可否について

3) 採血後のろ紙血管理

(1) ろ紙の汚染防止

ろ紙は手指等で汚さない様に十分注意する。特にアミノ酸含有輸液製剤、ステロイド軟膏、エッセンシャルオイル等を扱った場合は、必ず手指を良く洗った後にろ紙を扱うべきである²⁷⁾。

(2) 採血後のろ紙血の乾燥

採血後は高温多湿を避け、室温で2～4時間位水平に保って良く乾燥させる。ドライヤーの冷風で乾燥することは良いが、熱風を当ててはならない。また、直射日光やガラス越しの日光も避ける。

(3) 血液ろ紙の保管

採血当日に投函するのが原則であるが、出来ない場合は十分乾燥させた後、ビニル袋に入れて冷蔵保存する。生乾きのまま冷蔵庫での保管や凍結保存は不可である。

翌日の投函を忘れない様、保管場所を定め毎日チェックするのがよい。

4) 血液ろ紙検体の発送

採血当日に投函するのが原則である。対象疾患の中には、先天性副腎過形成症や有機酸代謝異常症、尿素回路異常症など、新生児期早期に発症する重篤な疾患も含まれているので、検査の遅れは重大な事態を引き起こす可能性がある。また、ろ紙血中の測定目的物質は、時間と共に変質・失活が徐々に進むことがあるので、可及的速やかに発送しなくてはならない。

(1) 乾燥したろ紙血検体は、ビニル袋に入れたり、ラップで包んだりしないで、必ず直接専用封筒に入れて投函すること。ビニル袋などで密封された状態で送ると、輸送中に高温多湿となり変質や失活が進み、正しい測定値が得られなくなる⁸⁾。

(2) 郵便法改正に伴う影響について

郵便法の改正により、2021年10月から土曜日配達が休止され、段階的に翌日配達も廃止となった。その結果、ろ紙血検体の検査施設への到着が今までより1～3日遅くなることが明らかとなった。NBSでは発症前に診断することが原則であるが、例えば先天性副腎過形成症塩類喪失型などでは日齢11～12に重篤な低ナトリウム血症(130mEq/L以下)、高カリウム血症(7mEq/L以上)の症状が出るとされている⁹⁾。そこで、本学会では日齢4での採血を推奨し、到着の遅れが予想される連休前や年末年始等には速達・レターパック利用の検討を分娩施設に対して要請している。詳細は本学会ホームページを参照されたい^{***}。

*** 2021年11月15日

郵便法改正の問題点と新生児マススクリーニングへの影響および日本マススクリーニング学会の対応について：

https://www.jsms.gr.jp/download/Yubin_Hokaisei_taitou_2021.pdf

*** 2021年12月6日

日本マススクリーニング学会から分娩施設へのお知らせの要点とQ&A：

https://www.jsms.gr.jp/download/Yubin_Hokaisei_2021-yoten.pdf

https://www.jsms.gr.jp/download/Yubin_Hokaisei_2021-Q&A.pdf

5) ヨウ素系消毒薬および抗菌薬

(1) ヨウ素系消毒薬の先天性甲状腺機能低下症スクリーニング検査への影響について

先天性甲状腺機能低下症スクリーニング検査はろ紙血中の TSH（一部の自治体で T4 併用）を測定している。周産期の母子へのヨウ素系消毒剤（イソジン®、ヨードチンキ®等）の使用により、ヨウ素が直接あるいは母乳を通じて新生児の体内に過剰に取り込まれ、一過性の甲状腺機能低下症を引き起こすことがある。その結果、一時的に TSH が上昇（時には T4 も低下）をきたし、特定の医療機関の再採血率を高くすることが知られている。特に新生児臍部消毒にヨウ素系消毒剤を高濃度使用すると、この傾向が強く見られる。再採血率が高い医療機関については、消毒状況を確認するとともに、他消毒剤への変更が可能か、依頼・相談することも必要である¹⁰⁾¹¹⁾。

(2) 抗菌薬投与の検査への影響について

ピボキシル基含有抗菌薬が使用されると、腸管から吸収される際にピボキシル基は血中に遊離されピバリン酸となる。ピバリン酸は血中の遊離カルニチンと抱合し、C5-アシルカルニチンと同じ質量のピバロイルカルニチンとなり、尿中に排泄される。その為、ピボキシル基含有抗菌薬を投与中の新生児では、C5-アシルカルニチンの上昇による偽陽性や、低カルニチン血症をきたすことがある。C5-アシルカルニチンが高値の新生児の精密検査では、抗菌薬の投与歴を聞く必要がある¹²⁾。

また、ピボキシル基含有抗菌薬を分娩前の妊婦に投与すると、児の採血で同様に C5-アシルカルニチン上昇、低カルニチン血症が見られることがあるので、注意が必要である。

6) 新規拡大スクリーニングに関して

(1) ヘパリン、EDTA などは定量 PCR の定量性に影響を与える可能性があるため、適正な外部精度管理の実施の観点から、採血時にそれらを使用しないことを強く推奨する¹³⁾。やむを得ず抗凝固剤を使用した場合は、その旨ろ紙に記載する。

(2) ライソゾーム病酵素活性は高湿度と高温、採血から酵素活性測定までの時間により低下することが報告されているため¹⁴⁾、採血後ろ紙に滴下した血液を完全に乾燥させて速やかに検査機関へ郵送することを推奨する。

参考文献：

1. 梅橋豊蔵：濾紙血の採取法・採血時期・保存法. 日本マス・スクリーニング学会誌 8 Supplement 2 : 24-27, 1998
2. Dried Blood Spot Specimen Collection for Newborn Screening. 7th ed. CLSI guideline NBS01. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.
3. 野町祥介、藤倉かおり、雨瀧由佳、花井潤師、福士 勝：新生児マススクリーニングのための新しい採血用濾紙の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 21 (1): 43-48, 2011.
4. Elvers LH, Loeber JG, Dhondt JL, et al: First ISNS Reference Preparation for Neonatal Screening for thyrotropin, phenylalanine and 17 α -hydroxyprogesterone in blood spots. *J Inher Metab Dis* 30 (4) 609, 2007.
<https://doi.org/10.1007/s10545-007-0622-y> (The online version of this article (doi:10.1007/s10545-007-0622-y) contains supplementary material, which is available to authorized users.)
5. 五十嵐健康、早川晶也、大井 正、他：新生児マススクリーニング採血の精度管理—我々の施設での取り組み—。日本マススクリーニング学会誌 28 (1): 71-80, 2018
6. 猪股弘明、楠田聡、大関武彦、他：新生児マス・スクリーニングにおける低出生体重児の採血時期に関する指針. 日本マス・スクリーニング学会誌 16 (3):6-7, 2006
7. Mikami-Saito Y, Maekawa M, Wada Y, et al: Essential oils can cause false-positive results of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab Rep* 2020 Nov 5:25:100674. doi: 10.1016/j.ymgmr.2020.100674.
8. 篠塚直樹, 前 博克, 藤井 正, 福士 勝：乾燥濾紙血中のアミノ酸, フリーカルニチン, アシルカルニチンの安定性の検討—保存温度・湿度・保存期間による影響—. 日本マス・スクリーニング学会誌 23 (3): 45-50, 2013
9. 鹿島田健一：21-水酸化酵素欠損症の新生児マススクリーニングの今後について。日本マススクリーニング学会誌 31 (1): 11-19, 2021.
10. 博多幸子、水沢丈子、吉田加寿子、斎藤君江、植田ヤイ子、古関正意：TSH 測定値におよぼすヨード系消毒剤の影響. 日本マス・スクリーニング学会誌 2 (1): 45-49, 1992
11. 原田正平、市原 侃、新井純理、本間寛：周産期に使用されたヨード含有消毒剤の影響によるクレチン症マススクリーニングの偽陽性者増加に関する全国調査. 日本マス・スクリーニング学会誌 3 (1): 95-99, 1993.
12. 雨瀧由佳, 野町祥介, 花井潤師, 他：タンデム検査で偽陽性を生じる抗生剤使用の問題点とその対応について. 日本マス・スクリーニング学会誌 20(3): 21-24, 2010.
13. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, John R: PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol*, 113 (5): 1014-1026, 2012.
14. 前 博克、篠塚直樹、福士 勝：乾燥ろ紙血ライソゾーム酵素の保存安定性の検討. 日本マススクリーニング学会誌 33 (1): 67-73, 2023.