

承認番号 20900AMY00003000

## クームス試験キット

ガンマ クローン 抗IgG (グリーン)  
(マウス由来モノクローナル抗体)注：使用前に本電子化された添付文書をよく読むこと。

## 【全般的な注意】

- 本製品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないこと。
- 診断は他の関連する検査結果や臨床症状などに基づいて総合的に判断すること。
- 添付文書以外の使用方法で得られた結果については保証できかねる。
- 使用する装置の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。詳細は装置のメーカーに問い合わせること。

## 【形状・構造等（キットの構成）】

ガンマ クローン 抗IgG (グリーン) は、マウス由来の抗ヒトIgGモノクローナル抗体を含んでいる。この抗体はIgM型抗体で、ヒトIgGのFc領域 (CH3) の抗原決定基と反応する。防腐剤として0.1%アジ化ナトリウムを含有している。ガンマ クローン 抗IgG (グリーン) は、緑色に着色されている。

## 【使用目的】

赤血球感作物質中、免疫グロブリンG (IgG) の検出

## 【測定原理】

抗グロブリン試薬は直接抗グロブリン試験及び間接抗グロブリン試験で使用される。直接抗グロブリン試験は体内 (in vivo) での赤血球感作を検出し、間接抗グロブリン試験は試験管内 (in vitro) での赤血球感作を検出する。いずれの試験でもガンマ クローン 抗IgG (グリーン) によって赤血球の凝集が認められれば結果は陽性で、赤血球上にIgGが存在することを意味する。

## 【操作上の注意】

- 検体：通常の静脈穿刺法により採血された血液を検体として検査に用いる。直ちに検査できない場合は1~8℃で保存し、それぞれ以下の期間内に検査する。  
直接抗グロブリン試験には、EDTAを抗凝固剤として採血し、採血後48時間以内に検査することが推奨される。他の抗凝固剤 (ACD、CPD、CPDA-1、CP2D、シュウ酸塩) で採血した血液を使用することもできる。凝固した血液を使用することもできる。間接抗グロブリン試験には、血清又は血漿を使用する。供血者の赤血球や赤血球試薬は有効期限まで使用することができる。中性ゲルの分離剤が入った採血管は、偽陽性を生じることがあるので使用してはならない。
- 反応の安定性：抗グロブリン試験の洗浄操作は中断せずにいき、最終検査結果は検査完了時直ちに判定すること。判定や洗浄操作における時間の経過は抗原抗体複合体の解離を引き起こし、偽陰性又は弱陽性反応の原因となる。
- 精度管理：
  - 試薬に十分量の抗IgGが存在することを確認するのは日常の精度管理の一部に含めるべきである。チェックセル等のIgG感作赤血球が本製品の日常の精度管理に使用できる。
  - 抗グロブリン試験の陰性結果はIgG感作赤血球 (チェックセル等) を添加して確認する。この結果が陽性であれば活性のある抗グロブリン (抗IgG) が添加され、最初に実施した抗グロブリン試験が陰性であったことが確認される。
- 検査材料の細菌又は化学汚染、不適切な赤血球濃度、不適切なインキュベーション時間や温度、不適切な遠心、材料の不適切な保存、試薬の添加ミスによって偽陽性や偽陰性反応が生じることがある。
- 試験管を強く振とうすると凝集が分散して消失してしまうことがある。
- 直接抗グロブリン試験における偽陽性反応は各々の被検赤血球浮遊液についてステップ3で抗ヒトグロブリンの代わりに生理食塩水を2滴添加するコントロール試験を実施することで確認できる。コントロール試験はワートン・ジェリーや洗浄操作で分離しなかったIgM型自己抗体による凝集の認識を容易にする。
- 抗体同定検査では自己対照の実施が推奨される。
- 抗グロブリン試験陰性の結果は十分に洗浄された非感作赤血球を含む試験管に反応性のある抗ヒトグロブリンが添加されたときのみ生じるが、次のような場合に偽陰性となる。
  - 赤血球の不適切 (不十分) な洗浄によって残存した血清グロブリンによる抗ヒトグロブリンの不活性化
  - 検査前の汚染による抗ヒトグロブリンの不活性化
  - 試験管への抗ヒトグロブリンの添加ミス  
抗グロブリン試験で赤血球を凝集させなかった抗ヒトグロブリンの活性は残存する。従って、IgG感作赤血球試薬を後から添加して凝集すれば抗ヒトグロブリンの存在と活性が証明される。抗ヒトグロブリンが試験管に添加されていなかったり、不活性化されていたりするとコントロール試薬の凝集は生じない。抗グロブリンコントロールが陰性となった場合、最初の検査は無効となるため、再検査を実施すること。
- ガンマ クローン 抗IgG (グリーン) を添加後、時間をおかず遠心することが重

要である。遠心の遅れは凝集の減弱に関係することがある。遠心開始が1分よりも遅くなった場合は、抗グロブリン確認試験で陽性結果が得られたとしても検査は無効と見なして再検査する必要がある。

- ガンマ クローン 抗IgG (グリーン) の着色は抗グロブリン試薬が試験管に添加されたことのみを示すものであり、試薬の反応性を保証するものではない。
- 直接抗グロブリン試験陽性の赤血球を、間接抗グロブリン試験に使用してはならない。

## 【用法・用量（操作方法）】

- 必要な器具・器材・試料等
  - 試験管 (10×75 mm又は12×75 mm)
  - ピペット
  - 生理食塩水又はリン酸緩衝食塩液 (15 mmol/L PBS ; pH 6.5~7.5)
  - 37℃恒温槽
  - タイマー
  - 遠心機 (輸血検査専用が望ましい)
  - 赤血球試薬又は供血者赤血球
  - IgG感作赤血球 (チェックセル等)
  - 間接抗グロブリン試験用の反応促進剤 (22%又は30%ウシアルブミン、ガンマ N-HANCE、ガンマPEG 等)
- 試薬の調製法  
室温 (18~30℃) に戻して、そのまま使用する。
- 測定法
  - 直接抗グロブリン (クームス) 試験
    - 被検赤血球の約3~4%浮遊液を必要事項を記入した試験管に1滴滴下する。
    - 試験管に生理食塩水を満たして血球を少なくとも3回洗浄する。洗浄ごとに生理食塩水を除去し、次の洗浄の生理食塩水を満たす前に血球を十分に再浮遊させる。最終洗浄後は生理食塩水を完全に除去する。
    - 生理食塩水を除去した血球にガンマ クローン 抗IgG (グリーン) を2滴添加する。
    - 十分に混合し、直ちに次のいずれかの条件で遠心する。
      - 3,400 rpm (rcf 900~1,000) で15秒
      - 1,000 rpm (rcf 100~125) で1分間
      - 使用する遠心機の回転数に適した時間
    - 試験管を穏やかに振とうして血球を再浮遊させて凝集の有無を判定し、結果を記録する。
    - 陰性となったものはIgG感作赤血球 (チェックセル等) で確認する。
  - 間接抗グロブリン (クームス) 試験
    - 試験に使用する赤血球浮遊液ごとに試験管を準備し、必要事項を記入する。
    - 各試験管に被検血清又は血漿を2滴滴下する。
    - それぞれ該当する試験管に生理食塩水に浮遊させた約3~4%赤血球浮遊液を1滴添加する。赤血球試薬は製造元の指示に従って使用する。試験管の内容物を十分に混合する。  
注意：必要であれば、試験管は室温で5~30分間インキュベーションする。
    - 試験管を次のいずれかの条件で遠心する。
      - 3,400 rpm (rcf 900~1,000) で15秒間
      - 1,000 rpm (rcf 100~125) で1分間
      - 使用する遠心機の回転数に適した時間
    - 溶血の有無を判定し、溶血が認められた場合は記録する。
    - 試験管を穏やかに振とうして血球を再浮遊させ凝集の有無を判定し、結果を記録する。
    - 必要であれば、反応促進剤を製造者の指示に従って添加する。
    - 試験管を37±1℃で30~60分間又は使用する反応促進剤の使用説明書に従ってインキュベーションする。
    - 必要であれば、試験管をステップ④の条件で遠心し、ステップ⑤及び⑥を繰り返す。
    - 試験管に生理食塩水を満たして血球を少なくとも3回洗浄する。洗浄ごとに生理食塩水を除去し、次の洗浄の生理食塩水を満たす前に血球を十分に再浮遊させる。最終洗浄後は生理食塩水を完全に除去する。
    - 生理食塩水を除去した血球にガンマ クローン 抗IgG (グリーン) を2滴添加する。
    - 十分に混合し、試験管をステップ④の条件で直ちに遠心する。
    - 試験管を穏やかに振とうして血球を再浮遊させ凝集の有無を判定し、結果を記録する。
    - 陰性となったものはIgG感作赤血球 (チェックセル等) で確認する。

## 【測定結果の判定法】

- 結果の判定法  
赤血球の凝集は検査結果が陽性であり、赤血球上にIgGが存在することを示す。赤血球の凝集が認められなければ、抗グロブリン確認試験が有効であることを条件として、検査結果が陰性であり、赤血球上に検出可能なIgGがないことを示す。
- 判定上の注意
  - 新生児溶血性疾患において、特にABO不適合が原因として疑われるとき、直接抗グロブリン試験陰性は必ずしもこれを否定することはできない。
  - IgG4抗体は本製品で検出されない。但し、IgG4抗体のみを保有する例は非常にまれである。
  - 本製品での検査では赤血球が補体成分で感作されているかどうかについての情報は得られない。

## 【臨床的意義】

1908年にMoreschiによって報告された抗グロブリン試験の原理は、Coombs及びその同僚によって1945年に初めて血液型血清学に応用された。その際ヒト蛋白で免疫された動物の血清がいわゆる「不完全」抗体の検出に使用された。赤血球に結合したヒト補体成分に抗グロブリン血清が反応することは1957年にDacie及びその同僚によって報告された。

抗グロブリン（クームス）試験は赤血球に結合した免疫グロブリンや補体の検出に重要な方法である。直接抗グロブリン試験は体内で赤血球に結合した抗体や補体を証明するのに使用され、間接抗グロブリン試験は、血清又は血漿と赤血球をインキュベーションした後試験管内で結合した抗体や補体を証明するのに使用される。

次の表は各々の抗ヒトグロブリン試薬の適用と限界を要約している。

	抗IgG,C3d (多特異性)	抗IgG	抗C3b,C3d (抗C3)
<b>直接抗グロブリン試験</b>			
新生児溶血性疾患の診断	○	○	
輸血副作用の調査	○	○*	○*
薬物誘発性赤血球感作の調査	○	○*	○*
自己免疫性溶血性貧血の調査	○	○*	○*
赤血球感作物質の種類の同定 (C3,IgG,IgM,IgA等)		○	○
<b>間接抗グロブリン試験</b>			
適合試験	○	○**	
供血者の不規則抗体スクリーニング	○	○**	
患者の不規則抗体スクリーニング	○	○**	
抗体の同定	○	○	○
抗原の検出	○	○	

\* 赤血球は多特異性（抗IgG,C3d）又はそれぞれの成分を含む抗ヒトグロブリン試薬（抗IgG、抗C3b、C3d、抗C3d等）を使用してIgGとC3dの両方の存在について検査されるべきである。

\*\* まれに抗C3成分を含む抗ヒトグロブリン試薬で証明される抗体を抗IgGで検出できないことがあり、一部の場において抗IgGで検出されない抗体が臨床的に重要である可能性が示唆されたという報告がある。

## 【性能】

- 性能
  - 感度  
IgG感作血球を試料として、抗ヒトIgG抗体液（本製品）を生理食塩水で希釈して操作した場合、凝集を示す最大希釈倍数は32倍である。
  - 正確性  
IgG感作血球、補体（C3b）感作血球、正常ヒト血球を試料としたとき、IgG感作血球では凝集反応を示し、補体（C3b）感作血球、正常ヒト血球では凝集を示さない。
  - 再現性  
IgG感作血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示す。正常ヒト血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示さない。
- 相関性試験成績  
本製品とA社の単一特異性抗ヒトグロブリン血清（抗IgG）との相関性を検討した。50例の赤血球について試験を行ったところ、良好な相関性が得られた。

## 【使用上又は取扱い上の注意】

- 取扱い上（危険防止）の注意
  - 血清等の検体はHIV、HBV、HCV等の感染の危険性があるものとして取扱いには十分注意すること。また、検体に接触した器具等は検体と同様、感染の危険性のあるものとして取扱うこと。
  - 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用すること。
  - 感染を避けるために口によるピペッティングを行わないこと。
  - 本製品には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含有されている。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。
  - 原料のウシ血清アルブミンは検査により米国家畜部検査官が疾病のないことを証明した米国産牛に由来しているため、伝達性海綿状脳症（TSE）の危険性は低い。
  - 本製品（ドロPPER部分）には素材として天然ゴムラテックスが使われており、人によってはアレルギー反応を起こすことがある。
- 使用上の注意
  - 本製品は、1～8℃で遮光保存すること。
  - 本製品は、高温にさらさないこと。
  - 本製品は、希釈せずに使用すること。
  - 極度の濁りを生じた試薬は、汚染や変質のおそれがあるので、使用しないこと。
  - ラベルの有効期間内に使用すること。
  - ロットの異なる試薬を混合して使用しないこと。また、試薬を注ぎ足して使用しないこと。
- 廃棄上の注意
  - 検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとして処理すること。
  - 使用後の容器を廃棄する場合は、貴施設の廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等区分して処理すること。
  - 本製品を廃棄する場合は、水質汚染防止法等の関連法規に従って処理すること。
  - 本製品が漏出又は飛散した場合は、少量のときは吸水紙等で拭き取り、大量のときは水で洗い流すこと。
  - 本製品には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含有されている。アジ化ナトリウムは鉛、銅等と反応して爆発性の高いアジ化金属を形成することがあるので、廃液等は大量の水で流すよう注意すること。

## 【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：1～8℃で遮光保存

有効期間：製造日から2年間（使用期限は容器ラベル及び外箱に表示）

## 【包装単位】

製品番号	製品名	包装
IMM0409210-1J	ガンマ クロウン 抗IgG（グリーン）	10 mL×1
IMM0409210	ガンマ クロウン 抗IgG（グリーン）	10本入り 10 mL×10

## 【主要文献】

- 谷脇清助, 他：抗グロブリン試薬の使用経験, 臨床検査機器・試薬, 21, 2 : 107-110 (1998)
- 丹羽玲子, 他：新しい多特異性抗ヒトグロブリン試薬の使用経験—モノクローナル抗体混合試薬—, 臨床検査機器・試薬, 21, 2 : 111-119 (1998)
- Sherwood GK, Haynes BF, Rosse WF : Hemolytic transfusion reactions caused by failure of commercial antiglobulin reagents to detect complement, Transfusion, 16 : 417 (1976)
- Wright MS, Issitt PD : Anticomplement and the indirect antiglobulin test, Transfusion, 19 : 688 (1979)
- Howard JE, Winn LC, Gottlieb CE, Grumet FC, Garratty G, Petz LD : Clinical significance of the anti-complement components of antiglobulin antisera, Transfusion, 22 : 269 (1982)
- Howell P, Giles CM : A detailed serological study of five anti-Jka sera reacting by the antiglobulin technique. Vox Sang, 45 : 129 (1983)
- Issitt PD, Smith TR : Evaluation of antiglobulin reagents, In: A seminar on performance evaluation. Washington, DC : American Association of Blood Banks : 25-73 (1976)

## 【問い合わせ先】

アイ・エル・ジャパン株式会社  
〒108-0073 東京都港区三田1-3-30  
Tel. 03-5419-1301

## 【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

アイ・エル・ジャパン株式会社  
〒108-0073 東京都港区三田1-3-30