

承認番号 21700AMY00205000

クラスⅢ免疫検査用シリーズ
不規則抗体検出・同定キットIgG型赤血球不規則抗体検出用
キャプチャーR レディー・スクリーン (Ⅳ)注：使用の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】

1. 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。
2. 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。
3. 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いたしかねます。
4. 本製品の血球膜固相ストリップ、指示血球、陽性対照血清及び陰性対照血清は、現在の米国食品医薬品局の要求に従って検査を行い、陰性を確認した供血者に由来する原料を使用している。従って、HBs 抗原、HCV 抗体、HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体の検査で陰性であるが、感染症の危険性があるものとして、十分に注意して取扱うこと。
5. 原料としてヒト血液を使用しているため、感染の危険性があるものとして取り扱うこと。
6. 全自動輸血検査装置を使用する場合は、全自動輸血検査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。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. 血球膜固相ストリップ-----12 ストリップ (96 ウェル)
4 人の O 型供血者由来の赤血球膜を固相化したウェル (O 型赤血球 1~3 μ L/mL/ウェル) からなるストリップ。1 ストリップは 8 ウェルより構成。
 - ・付属品 マスターリスト (1 枚)
各ロットに添付のマスターリストは、血球膜の調製に用いた供血者 ID と抗原構造を示している。
2. LISS 液 (別売)
グリシン、紫色素及び保存剤としてアジ化ナトリウム (0.1%) を含む低イオン強度溶液。
3. 指示血球 (別売)
抗ヒト IgG マウスモノクローナル抗体を感作させた赤血球浮遊液 (0.5~1.5 μ L/mL)。防腐剤としてクロラムフェニコール (0.25 mg/mL) と硫酸ネオマイシン (0.1 mg/mL) 及び硫酸ゲンタマイシン (0.05mg/mL) を含む。
4. 陽性対照血清 (別売)
赤血球不規則抗体を含むヒト血清。保存剤としてアジ化ナトリウム (0.1%) を含む。
5. 陰性対照血清 (別売)
赤血球不規則抗体を含まないヒト血清。保存剤としてアジ化ナトリウム (0.1%) を含む。

【使用目的】

血清中又は血漿中の赤血球不規則抗体 (IgG 型) の検出 (不規則抗体の同定の補助) ^{1~3}

【測定原理】

本法は、Plapp らや十字らの方法に基づく固相法による抗体検出システムを改良したものである。抗体スクリーニング用の O 型赤血球膜が固相化されたウェルに、低イオン強度溶液と検体を加え 37℃で加温すると、検体中の不規則抗体は赤血球抗原に結合する。次に非結合の免疫グロブリンを洗浄によりウェルから除去し、抗ヒト IgG を感作させた指示血球を加えて遠心する。IgG 型抗体が存在すると、固相血球膜の表面に IgG-抗 IgG 複合体が形成され、指示血球がウェル表面に結合して均等に分散する。一方、IgG 型抗体が存在しないと抗原抗体反応が起こらないため、指示血球が中心部に沈降する。

【操作上の注意】

1. 検体：
通常静脈穿刺法により採取された新鮮血清又は血漿を検体として検査に用いる。血漿検体のときの抗凝固剤は、EDTA、ACD、CPD、CPDA-1、CP2D を使用する。できるだけ速やかに検査を実施し、不適切な保存や汚染による偽陽性や偽陰性の発生機会を避ける。採血後 24 時間以内に検査ができない場合は速やかに 1~10℃で保存するか、血球と分離して凍結保存する。数日間室温に放置された検体や、1~10℃で長期間保存された検体では、抗体の反応性が低下して、検出できなくなることがあるため 3 日以内に検査に供しなくてはならない。中性ゲルの分離剤が入った採血管は、偽陽性を生ずることがあるので使用してはならない。
2. 反応の安定性
遠心後は直ちに反応を読み取る。陽性反応は長期に安定であるので、遠心後、蒸発を防ぐための覆いをして 1~10℃で静置すれば、2 日間は読み取り又は再判定が可能である。
3. 精度管理
 - A. 全自動輸血検査装置による場合
検査を実施する場合は、装置の添付文書及び取扱説明書に記載されている指示に従う。
 - B. 用手法による場合
日常の精度管理は、検査の都度、必ず陽性・陰性の対照血清を並行して測定することで行う。各対照血清を加えることにより、手技又は試薬に起因する誤りが確認できる。再試験を繰り返しても、各対照血清の結果が思わしくなければ、試薬の劣化、又は誤った操作が行われていると考えられる。
4. アルミ袋から取り出した血球膜固相ストリップは、8 時間以内に使用する。使用しないストリップは、直ちに乾燥剤及び乾燥指示紙とともに袋に戻し、再密封して保存する。開封時に乾燥指示紙が青色でなく、吸湿を意味する桃色を呈している場合は、その袋内のストリップは使用しないこと。
5. 「スチールボール」を加えた指示血球は 24 時間以内に使用すること。
6. 用法及び用量を厳守すること。指示血球の添加量が多すぎる場合、偽陰性や不明瞭な反応が認められることがある。また、指示血球の添加量が少なすぎる場合や、試薬の混和が不十分又は赤血球が溶血した場合には、弱い偽陽性反応が認められることがある。指示血球が使用時に 18℃未満であった場合も弱い偽陽性反応が認められることがある。
7. 遠心条件は、装置毎に正しい結果の得られる条件を設定する。遠心過剰では、結合した指示血球の剥離から偽陰性や不明瞭な陽性となる可能性がある。逆に遠心不足は偽陽性となる。また、遠心機のブレーキの効き方により、遠心終了時に得られる凝集反応の結果に影響が出ることがある。装置内でブレーキメカニズムが働かず減速時間が長くなると偽陰性反応が認められることがある。また、遠心機のブレーキにより減速時間が短縮しても検査結果に誤りが生じることがある。
8. 検査材料の細菌汚染や化学的汚染、不適切な加温時間、遠心の過剰や不足、不適切なウェル洗浄、試薬の入れ忘れ、操作手技の誤り等が、結果判定を誤る原因となる。
9. 指示血球の汚染に注意する。IgG を含む血清や血漿が指示血球に混入すると、指示血球上の抗ヒト IgG が中和されて偽陰性結果が生じる。その場合、陽性コントロールウェルも陰性となる。
10. 試験の最終段階で抗ヒト IgG 抗体 (本製品の場合、指示血球に相当) を滴下する前のストリップ洗浄の際、酸性で緩衝能力のない不適切な洗浄液を使用すると、抗原抗体反応が減弱することがある。pH6.5~7.5 に調製された生理食塩水あるいはリン酸緩衝食塩液を用いると最適の結果が得られる。
11. 全自動輸血検査装置を用いて本検査を行う場合は、全自動輸血検査装置の取扱説明書に記載の注意事項を厳守すること。

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要な器具・器材・検体等
 - A. 全自動輸血検査装置による場合
 - ① スチールボール
 - ② 洗浄液 [リン酸緩衝食塩液 (15 mmol/L PBS ; pH6.5~7.5)]
 - ③ その他、各装置に必要な QC 用試薬
 - B. 用手法による場合
 - ① 検体分注用ピペット 50 μ L 用
 - ② プレート用遠心機

- ③ 37℃恒温槽又は乾式恒温機
- ④ 洗浄液〔生理食塩水あるいはリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH6.5～7.5）〕
- ⑤ 洗浄用器具（プラスチック製噴射瓶、分枝（マルチ、8連式）分注機、深底バット、マイクロプレート用自動洗浄機）
- ⑥ ストップウォッチ又はタイマー
- ⑦ 観察箱（ビューワー）
- ⑧ バランス用マイクロプレート

2. 試薬の調製法

- 血球膜固相ストリップ； 18～30℃に戻し、そのまま使用する。
 LISS 液； 18～30℃に戻し、そのまま使用する。
 指示血球； 18～30℃に戻し、穏やかに数回転倒混和し、均一な浮遊液にしてから使用する。
 陽性対照血清； 18～30℃に戻し、そのまま使用する。
 陰性対照血清； 18～30℃に戻し、そのまま使用する。

3. 操作方法

A. 全自動輸血検査装置による場合

測定法は基本的には用手法と同様であるが、検体及び試薬の分取、分注から結果の判定まで装置内で自動的に行われる。測定法の概要は以下の通りであるが、実際に全自動輸血検査装置を用いて検査を行う場合は、全自動輸血検査装置の取扱説明書記載の操作方法に従って操作すること。

- ① 試験を開始する前に、全構成試薬及び検体を 18～30℃に戻す。
- ② 指示血球のバイアルに「スチールボール」を 1 個加える。
（注）「スチールボール」を加えた指示血球は 24 時間以内に使用すること。
- ③ 検査用血液が入った試験管を遠心し、血球と上清（検体）に明瞭に分離する。
- ④ 全自動輸血検査装置に検体を搭載し、本試薬のアッセイを選択する。
- ⑤ 血球膜固相ストリップ及びその他本測定に必要な試薬を全自動輸血検査装置に搭載する。
（注）アルミ袋から取り出したストリップは 8 時間以内に使用すること。
- ⑥ 以上の準備が完了したあと、Start ボタンを押すと、全自動輸血検査装置は自動的に検体及び試薬の吸引・分注、試薬と検体の混和、加温、洗浄、遠心・判定を実行し、結果を記録する。

B. 用手法による場合

- ① 本製品の全構成試薬及び検体を 18～30℃に戻す。
 - ② アルミ袋から必要分のストリップ・ウェルを取り出す。袋の中の乾燥指示紙を調べ、吸湿を示す（青色から桃色に変色している）場合は、その袋内のストリップは使用しない。使用分以外のストリップと乾燥剤・乾燥指示紙は直ちに袋に戻し、再密封して保存する。
（注）アルミ袋から取り出したストリップは 8 時間以内に使用すること。
 - ③ ストリップの上方のタブを調べる。「RS4」及びロット番号の表示がなければ、そのストリップは使用しない。赤血球の配列は、図 1 に示されている。
 - ④ ストリップをホルダーに納める。正しい向きของときだけホルダーにセットできる。
 - ⑤ LISS 液を 2 滴（約 100 μL）ずつ、各ウェルに加える。
（注）LISS 液の紫色は、血清か血漿が加わると青色に変化する。次の操作のあとでも紫色のままであるときは、検体加えられなかったことの証拠となる。LISS 液の分注はガラス瓶の上蓋付属のスポイトで行う。
 - ⑥ 陽性・陰性の対照血清及び患者又は供血者の検体を次の要領でウェルに加える（図 1）。
- 1) ウェル①に、陽性対照血清を 1 滴（約 50 μL）加える。
 - 2) ウェル②に、陰性対照血清を 1 滴（約 50 μL）加える。
 - 3) ウェル⑤～⑧に、第 1 の検体を 1 滴（約 50 μL）ずつ加える。（ウェル③と④はスキップする）。
 - 4) ウェル⑨～⑫に、第 2 の検体を 1 滴（約 50 μL）ずつ加える。
 - 5) 以下同じ要領で、残りの検体を各ウェルに加える。検体数が多くてストリップが足りないときは、ストリップを追加する。各ホルダーには、必ず 1 組の対照血清を含めて、

遠心や洗浄が適切であったかどうかを確認する。

（注）陽性対照血清及び陰性対照血清の分注はガラス瓶の上蓋付属のスポイトで行う。

- ⑦ ストリップを、36～38℃で 15～60 分間、加温する。乾式恒温機を使用のときは 20～60 分間加温する。この際、蒸発を防ぐための覆いをする。
- ⑧ 時間がきたらウェル内の液を振り捨てるか吸引除去し、そのあと次の要領でウェルを洗浄する。

1) 用手法による洗浄

- a. マイクロプレート用の分枝式分注機か噴射瓶を使って、ウェルに洗浄液を満たす。あまり強い力で洗浄液をウェル底部に吹きかけると、赤血球が剥がれる恐れがあるので、加減する。又は、深底バットに洗浄液を入れておき、ストリップを斜めに洗浄液の中に入れ、ウェル内に液を満たす。
- b. ウェルを逆さにして廃棄容器に液を捨て、数回手早く振ってウェル内の洗浄液をできるだけ除く。
- c. a、b の操作を繰り返し、ウェルを最低 6 回洗浄する。最終洗浄のあとは、紙タオルに伏せて軽くたたきなどして、できるだけ完全に洗浄液を除く。

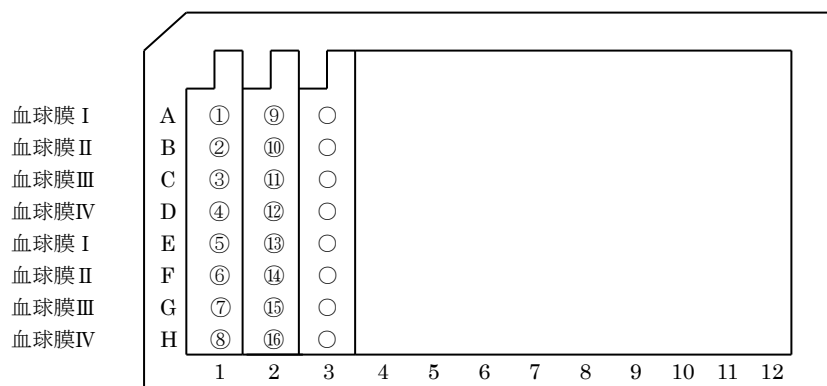
2) 自動洗浄

自動洗浄装置の取扱説明書に記載の操作方法に従って操作する。

（注）洗浄装置は洗浄後の残液が 4～8 μL 程度残るように調整する。液がなくなるまで吸引してはならない。

- ⑨ 洗浄後のウェルに指示血球を 1 滴（約 50 μL）ずつ加える。
（注）指示血球の分注はガラス瓶の上蓋付属のスポイトで行う。
- ⑩ 直ちにストリップをプレート遠心機に載せ、450～600×g で 1～3 分間遠心する。（使用する遠心機で最適条件をあらかじめ検証すること。）
- ⑪ ストリップを遠心機から取り出し、観察箱の上に載せて指示血球が付着しているか否かを観察する。
1 ホルダーで操作した分の陽性対照が陽性反応を、陰性対照が陰性反応を示している場合に試験有効とする。それ以外の反応が見られた場合、試験無効とし再試験を実施すること。

図1 血球膜固相ストリップ



【結果の判定法】

1. 判定法

用手法による判定は下記により行う。

- 陽性： 指示血球がウェルで部分的、又は全面的にウェル表面に付着し、薄膜様の血球層が形成されている。
- 弱陽性： 外周縁が不均一なやや大きめの血球ボタン又はリングを形成する。
- 陰性： 指示血球は広がらず、ウェルの中心部にボタン状の血球沈渣が形成されている。
- なお、全自動輸血検査装置では、結果は自動的に判定される。



2. 判定上の注意

- 1) 本製品は IgG 型不規則抗体検出用に設計されており、IgM 型抗体や補体成分は検出できない。ただし、通常 IgM 型で出現すると見なされている抗体（抗 M、Le^a、Le^b、P₁ など）であっても、

それらが IgG 抗体を伴う場合、本製品で陽性となる。しかし、一部の IgM 抗体が指示血球と固相化された赤血球上の抗原と直接結合し陽性となることもあるため、本製品で検出される抗 M、Le^a、Le^b、P₁ などは、追加試験を行ってから IgG 成分を含むと判断すべきである。これらの特異性はほとんどの場合、臨床的に重要でないとみなされる。一般的に臨床的意義があると思われる特異性でも IgM 型の抗体 (IgM 型抗 K、IgM 型抗 E など) の場合は本製品では反応しないことがある。

- 2) Bg^a、Bg^b、Kn^a、Cs^a、Yk^a、JMH、McC^a、Ch、Rg 抗原に対する抗体は、本法で弱いことがある。受動的に投与された抗 D は、本法で反応しないことがある。弱反応性の抗体が、他法で検出できても、本法で検出できないことがある。全ての抗体を検出できる方法はない。
- 3) 検体に含まれる特異 IgG 抗体量が、本法の検出感度以下のときは陰性となる。
- 4) 本製品の反応性は、試薬の保存時間の経過とともに低下する可能性がある。反応性の低下速度は、供血者の個体差にも依存するが、製造業者が個体差をコントロールすることや予測することはできない。
- 5) 純粋な IgG4 サブクラス抗体は本製品では検出されないことがある。ただし、純粋な IgG4 抗体はきわめて稀である。
- 6) 本製品で使用している血球の同型接合性は、その背景を遺伝子的に確認したものではない。また、同型接合血球が当該抗原を 2 倍量保有することを、血清学的に証明する検査を実施しているわけではない。
- 7) 力価、反応性及び特異性を確認するため、本製品の各ロットは出荷前に IgG 抗体を含有する参照血清や赤血球抗体のない参照血清を用いて検査している。指示血球上の抗ヒト IgG 抗体は、抗 D 及び抗 Fy^a の希釈による力価試験によって評価している。
- 8) 使用する赤血球は、由来の異なる 2 種類以上の抗体を用いて、2 箇所の検査機関あるいは検査施設でその抗原性の確認を行っている。また、全ての赤血球は、固相法により直接抗グロブリン試験陰性であることを確認している。
- 9) 本製品は抗原抗体反応の増強に LISS 液を用いているが、抗原抗体反応系によっては LISS 液で検出できないもの、反応性の弱いものの存在が知られている。
- 10) 本製品に使用する赤血球は、検査していない抗原を保有している可能性があるため、本製品で得られた陽性の結果が、マスターリストの抗原構造と一致しない可能性がある。

【臨床的意義】

健常人の血中には、通常抗 A、抗 B 抗体以外の抗赤血球抗体は存在しない。しかし、輸血や妊娠により免疫抗体が産生されたり、自然に血液型物質に対する自然抗体が産生されたりすることがあり、これらの抗体を赤血球不規則抗体と総称している。不規則抗体は種類が多く、各々反応態度・至適条件が異なる。溶血性の輸血副作用や新生児溶血性疾患の原因となる、臨床的意義のある IgG 型赤血球不規則抗体の検出は必須とされ、37℃の加温と間接抗グロブリン試験の実施が望ましい。本製品は、4 人の 0 型供血者由来の赤血球をそれぞれ別個にウェルに固相したポリスチレン製マイクロストリップを用いた固相法による、迅速かつ簡便な IgG 型赤血球不規則抗体検出用試薬である。

【性能】

1. 性能
- 1) 感度試験
- 血液型判定用抗体基準適合の抗 D 血液型判定用抗体 (ヒト由来アルブミン液抗体) を試料として操作するとき、陽性が確認される希釈倍数は、1, 024 倍以上である。
- 2) 正確性試験
- (ア) IgG 型赤血球不規則抗体陽性の管理用検体 (マスターリスト記載の陽性抗原に対応する抗体を含む管理用検体) を測定するとき、陽性を示す。
- (イ) 赤血球不規則抗体陰性の管理用検体 (マスターリスト記載の陽性抗原に対応する抗体を含まない管理用検体) 及び IgM 型赤血球不規則抗体陽性の管理用検体を測定するとき、陰性を示す。
- 3) 同時再現性試験
- IgG 型赤血球不規則抗体陽性の管理用検体 (マスターリスト記載の陽性抗原に対応する抗体を含む管理用検体) を 5 回同時に

測定するとき、すべて陽性を示す。

2. 相関性試験成績
- 1) 血清検体
- 不規則抗体を含む血清 20 例と不規則抗体を含まない血清 50 例の 70 例について、本製品と既承認品 (固相法) の比較を行ったところ、次の通り良好な相関を示した。
- | | | 既承認品 (固相法) | |
|-----|----|------------|----|
| | | 陽性 | 陰性 |
| 本製品 | 陽性 | 20 | 0 |
| | 陰性 | 0 | 50 |
- 2) 血漿検体
- 不規則抗体を含む血漿 20 例と不規則抗体を含まない血漿 49 例の 69 例について、本製品と既承認品 (固相法) の比較を行ったところ、次の通り良好な相関を示した。
- | | | 既承認品 (固相法) | |
|-----|----|------------|----|
| | | 陽性 | 陰性 |
| 本製品 | 陽性 | 20 | 0 |
| | 陰性 | 0 | 49 |
3. 校正用の基準物質
- 不規則抗体同定・検出のキットの校正用基準物質は無い。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意
- 1) 本製品の血球膜固相ストリップ、指示血球、陽性対照血清及び陰性対照血清は、現在の米国食品医薬品局の要求に従って検査を行い、陰性を確認した供血者に由来する原料を使用している。従って、HBs 抗原、HCV 抗体、HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体の検査で陰性であるが、感染症の危険性があるものとして、十分に注意して取扱うこと。
- 2) 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り扱うこと。
- 3) 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。
- 4) 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。
- 5) 本製品の LISS 液、陽性対照血清及び陰性対照血清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措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。
- 6) 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。
2. 使用上の注意
- 1) 本製品は予約注文品である。
- 2) 本製品は 1~10℃で保存すること。
- 3) 指示血球が黒変していたり、極度に溶血しているときは使用しない。ただし、指示血球は保存中にわずかに凝集や溶血を生じることがある。
- 4) 本製品中の LISS 液、指示血球、陽性対照血清、陰性対照血清は希釈せずに使用すること。
- 5) LISS 液及び対照血清に混濁が認められる場合は、使用しない。
- 6) 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、使用してはならない。
- 7) ラベル記載の有効期間内に使用すること。液漏れの見られる試薬は使用しないこと。
- 8) ロットの異なる試薬を混合して使用してはならない。また、試薬を注ぎ足して使用してはならない。
3. 廃棄上の注意
- 1) 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。
- 2) 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別して処理すること。
- 3) 本製品を廃棄する場合は、水質汚濁防止法等の関連法規に従って処理すること。
- 4) 本製品が漏出又は飛散した場合は、少量のときは吸水紙で拭き取り、大量のときは水で洗い流すこと。
- 5) 本製品の LISS 液、陽性対照血清及び陰性対照血清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】

(キットの貯蔵方法及び有効期間)

- 貯蔵方法：1～10℃で保存。
- 有効期間：60 日 (各構成試薬の有効期限は容器ラベル及び外箱に表示)

(各構成試薬の貯蔵方法及び有効期間)

血球膜固相ストリップ	1～30℃で保存	120 日
LISS 液	1～10℃で保存	12 カ月
指示血球	1～10℃で保存	60 日
陽性対照血清	1～10℃で保存	15 カ月
陰性対照血清	1～10℃で保存	15 カ月

【包装単位】

製品名	包装
キャプチャーR レディー・スクリーン (IV)	
血球膜固相ストリップ	24 テスト

【主要文献】

1. 永峰啓丞：医学と薬学, 35, 5：1129-1134 (1996)
2. 山根和恵：臨床検査機器・試薬, 22, 2：181-185 (1999)
3. 道野淳子：臨床検査機器・試薬, 22, 3：275-281 (1999)

【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