

承認番号 30100EZ00030000

クラスⅢ免疫検査用シリーズ Rh式血液型キット

イムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4

抗D血液型判定用抗体（食塩液及びアルブミン液抗体）

〔ヒト/マウス由来モノクローナル抗体〕

―試験管法又はスライド法用―

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】

- 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等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）】

イムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4は、ヒト/マウスヘテロハイブリドーマ由来の抗Dモノクローナル抗体（IgM型及びIgG型）を含んでいる。試薬は凝集反応を強めるためにウシアルブミン等を含む緩衝液で調製されており、防腐剤として0.1%アジ化ナトリウムを含有している。

【使用目的】

赤血球上のD（Rho）抗原の検出（Rh式血液型判定の補助）^{1~4}

【測定原理】

用手法におけるD抗原検査の原理は直接凝集法であり、D抗原が存在する場合は凝集が生じ、D抗原陽性と判定される。そこで凝集が生じなかった場合は直ちにD抗原陰性と判定はされず、D陰性確認試験が行われる。

D陰性確認試験は間接抗グロブリン試験の原理を利用しており、抗グロブリン試薬を使用することで、直接凝集法では凝集が生じなかった弱いD抗原であっても明確な凝集を生じさせることができ、D抗原有無の判定が可能となる。このD陰性確認試験で凝集が生じた場合はWeak D、凝集が生じなかった場合はD抗原陰性と判定される。

【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。採血は抗凝固剤使用の有無に拘わらず無菌的に行う。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最小にする。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。この場合、EDTA加検体は10日まで検査することができる。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。ヘパリン、ACD、AS-1、AS-3、AS-5、CPD、CPDA-1またはCP2Dを用いて採血された検体は、抗凝固剤の有効期限まで試験することができる。
- 反応の安定性**：試験管法では、遠心後直ちに結果を読み取り、判定すること。時間の経過は抗原抗体複合体の解離を引き起こし、偽陰性又は弱い陽性反応となることがある。スライド法では、乾燥により陰性結果が誤って陽性と判定される可能性を避けるために2分以内に検査を完了すること。
- 精度管理**：反応性を確認するために、本製品は使用日ごとにD抗原陽性赤血球及びD抗原陰性赤血球で検査することが推奨される。D抗原陽性赤血球のみが凝集すれば本製品は有効であると考えられる。
- 検査材料の細菌汚染又は化学的汚染、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。
- 保存された検体で得られた陽性反応は、新鮮検体で得られたものよりも弱い可能性がある。
- 使用する機器における本製品の妥当性の確認は施設の責任において実施すること。
- 試験管法及びスライド法ではRhコントロールによる試験を行うこと。
- D陰性確認試験では、試験管法で行ったRhコントロールによる試験の結果が陰性であることを確認すること。

【用法・用量（操作方法）】

- 必要な器具・器材・試料等
- 試験管法

- ①試験管（75×12 mm又は75×10 mm）
- ②ピペット
- ③生理食塩水又はリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH 6.5～7.5）
- ④タイマー
- ⑤Rhコントロール
- ⑥遠心機（輸血検査専用のものが望ましい）

2) スライド法

- ①スライドガラス
- ②ピペット
- ③攪拌棒
- ④生理食塩水又はリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH 6.5～7.5）
- ⑤タイマー
- ⑥Rhコントロール
- ⑦ビューボックス

3) D陰性確認試験

- ①試験管法で用いた器具・器材・試料等
- ②37℃恒温槽
- ③抗IgGを含む抗グロブリン試薬
- ④IgG感作赤血球

2. 試薬の調製法

18～30℃に戻してから、そのまま使用する。

3. 測定法

1) 試験管法

- ①試験管にイムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4を1滴（約50 μL）滴下する。また、別の試験管にRhコントロールを1滴（約50 μL）滴下する。
- ②生理食塩水又は自己血清（血漿）を用いて調製した被検赤血球約2～5%浮遊液を、ピペットを用いて各試験管に1滴（約50 μL）滴下する。なお、生理食塩水の代わりにリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH 6.5～7.5）を用いても良い。
- ③試験管を振とうして十分に混和し、次のいずれかの条件で遠心する。
 - A) 3,400 rpm（rcf 900～1,000）で15秒間
 - B) 1,000 rpm（rcf 100～125）で1分間
 - C) 使用する遠心機の回転数に適した時間
- ④試験管を穏やかに振とうして沈殿した赤血球を再浮遊させ、肉眼で凝集の有無を判定し、結果を記録する。
- ⑤試験結果が陰性又は疑わしい場合、必要に応じて、続けてD陰性確認試験を行う。

2) スライド法

- ①ビューボックス上で温めた（40～50℃）スライドガラスにイムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4を1滴（約50 μL）滴下する。また、別のスライドガラスにRhコントロールを1滴（約50 μL）滴下する。
- ②生理食塩水又は自己血清（血漿）を用いて調製した被検赤血球約35～45%浮遊液を、ピペットを用いてスライドガラスに2滴（約100 μL）滴下する。なお、生理食塩水の代わりにリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH 6.5～7.5）を用いても良い。
- ③清潔な攪拌棒を用いて試薬と血球を混ぜ合わせ、約20 mm×40 mmの楕円状に広げる。
- ④ビューボックスをゆっくり前後に動かして2分以内に凝集の有無を判定し、結果を記録する。
- ⑤試験結果が陰性又は疑わしい場合、必要に応じて、D陰性確認試験を行う。但し、D陰性確認試験を行う前に、試験管法による試験を行うこと。

3) D陰性確認試験

- ①試験管法の結果を受けてD陰性確認試験を行う場合、試験管法で用いた試験管及び検査対照のRhコントロールを滴下した試験管を、そのまま36～38℃で15分間インキュベートする。次に、ステップ②に進むか、もしくは試験管法ステップ③の手順で遠心を行い、試験管法ステップ④の手順で判定し、結果を記録する。はっきりした凝集が肉眼的に認められれば被検赤血球はD陽性であり、検査を継続する必要はない。そうでない場合はステップ②に進む。
- ②血球を生理食塩水で少なくとも3回洗浄する。なお、生理食塩水の代わりにリン酸緩衝食塩液（15 mmol/L PBS；pH 6.5～7.5）を用いても良い。
- ③各試験管に、抗グロブリン試薬（ガンマ クローン 抗IgG若しくはガンマ クローン 抗IgG（グリーン））を2滴（約100 μL）滴下する。
注意：使用する抗グロブリン試薬の添付文書に従うこと。
- ④試験管を振とうして十分に混和し、次のいずれかの条件で遠心する。
 - A) 3,400 rpm（rcf 900～1,000）で15秒間
 - B) 1,000 rpm（rcf 100～125）で1分間
 - C) 使用する遠心機の回転数に適した時間

- ⑤試験管を穏やかに振とうして沈殿した赤血球を再浮遊させ、肉眼で凝集の有無を判定し、結果を記録する。
- ⑥陰性の場合、IgG感作赤血球（チェックセル等）を1滴（約50 μ L）滴下した後、遠心して間接抗グロブリン試験陰性の有効性を確認する。

【測定結果の判定法】

1. 判定法

- 1) 試験管法及びスライド法
赤血球の凝集が認められればD陽性である。なお、Rhコントロールの判定が陰性であることを確認する。
試験結果が陰性又は疑わしい場合、必要に応じて、D陰性確認試験を行う。
- 2) D陰性確認試験
イムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4で赤血球の凝集が認められ、Rhコントロールで赤血球の凝集が認められなければD陽性である。イムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4及びRhコントロールで赤血球の凝集が認められなければD陰性である。
Rhコントロールで赤血球の凝集が認められた場合、判定は保留となる。

2. 判定上の注意

- 1) 溶血が認められる場合は、陽性と判定しないこと。
- 2) 強い冷式自己抗体や蛋白異常による連銭形成によって偽陽性反応を示すことがある。そのような場合、Rhコントロールによる試験が陽性になる。Rhコントロールによる試験が陽性の場合、被検赤血球を温めた生理食塩水で数回洗浄した後、試験管法による試験を再度行う。Rhコントロールによる試験が再度陽性を示した場合は、抗D試薬で得られた結果は有効ではない。
- 3) D陰性確認試験において、IgG感作赤血球添加後の判定で陰性となった場合、D陰性確認試験は無効となる。陽性の場合、抗グロブリン試薬が確実に添加され、中和されていないことを示す。
- 4) IgG感作により直接抗グロブリン試験陽性を示す赤血球には、D陰性確認試験を行うことはできない。
- 5) D抗原の全ての部分を検出するモノクローナル由来の判定試薬は、まだ見出されていない。

【臨床的意義】

Rh式血液型は1940年、LandsteinerとWienerにより発見された。Rh型、すなわちRhの陽性と陰性は、赤血球上のD（Rho）抗原の有無で区別される。D抗原は40種類以上あるRh血液型抗原群の1つで^{5,6}、輸血においてABO血液型のA抗原、B抗原と同等に重視される。

日本人の約99.5%はこの抗原を保有し、残りの0.5%はこの抗原を保有しない。Rh陰性者の中には、抗D抗体を保有する人があり⁷、抗体は輸血副作用や新生児溶血性疾患の原因になることから、抗体産生を予防する目的でRh型が正しく判定されなければならない。

【性能】

1. 性能

- 1) 直接凝集法
- ①感度
血液型判定用抗体基準に従って試験を行うとき、凝集価試験での凝集価は、参照品と同等またはそれ以上である。また、凝集力試験は、60秒以内に凝集が開始し、形成された凝集塊の大きいものは2分以内に直径1mm以上になる。
- ②正確性
血液型判定用抗体基準の特異性試験に従って試験を行うとき、D陽性血球は凝集反応を示し、D陰性血球は凝集反応を示さない。
- ③再現性
D陽性血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示す。
D陰性血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示さない。
- 2) D陰性確認試験
- ①感度
D弱陽性血球を試料として、本品を1～2w/v%ウシ血清アルブミン加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8倍以上である。
- ②正確性
D弱陽性血球及びD陰性血球を試料としたとき、D弱陽性血球では凝集反応を示し、D陰性血球では凝集反応を示さない。
- ③再現性
D弱陽性血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示す。
D陰性血球を試料として3回試験するとき、いずれも凝集反応を示

さない。

2. 相関性試験成績

- 1) 直接凝集法
本製品とA社抗D抗体試薬及びB社抗D抗体試薬との間で相関性を検討した。58例のD陽性検体及び60例のD陰性検体について試験管法及びスライド法による試験を行ったところ、判定結果は全て一致し、良好な相関性が認められた。
- 2) D陰性確認試験
本製品とA社抗D抗体試薬及びB社抗D抗体試薬との間で相関性を検討した。50例のD弱陽性検体及び50例のD陰性検体について試験を行ったところ、判定結果は全て一致し、良好な相関性が認められた。

【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) 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。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 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措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。
- 5) 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。
- 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2～8℃で保存すること。
- 2) 本製品は高温にさらさないこと。
- 3) 本製品は希釈せずに使用すること。
- 4) 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。
- 5) ラベル記載の有効期間内に使用すること。
- 6) 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。

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、水質汚染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等で拭き取り、大量のときは水で洗い流すこと。
- 5) 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：2～8℃で保存

有効期間：1年間（有効期限は容器ラベル及び外箱に表示）

【包装単位】

製品名	包装
イムコア抗Dモノクロ（IgM/IgG）S4	10 mL×1

【主要文献】

1. 宮崎 孔，他：血液型判定用モノクローナル抗体の評価，臨床検査機器・試薬，21，2：120-124（1998）
2. 日本臨床衛生検査技師会：輸血検査の実際：8-9（1996）
3. 遠山 博：輸血学 改訂第2版 中外医学社：216-224（1989）
4. AABB：Technical Manual：255-275, 617-620（1996）
5. Issitt PD. Serology and genetics of the Rhesus blood group system. Cincinnati: Montgomery Scientific（1979）
6. Race RR, Sanger R. Blood groups in man. 6th ed. Oxford: Blackwell Scientific：179-260（1975）
7. Mollison PL, Englefried CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific（1992）

【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