

Rh式血液型キット

自動分析機用

ノバクロン抗D(IgM/IgG) 2本入り

ノバクロン抗D(IgM/IgG) 5本入り

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等に基づいて総合的に判断すること。
- 添付文書以外での使用方法で得られた結果については保証できません。
- 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)】

- 抗D抗体液：液剤
反応系に参与する成分
抗DモノクローナルIgM抗体(ヒト)
抗DモノクローナルIgG抗体(ヒト)
 - 抗ヒトグロブリン抗体液(ガンマクロン抗IgG)：液剤(別売)
反応系に参与する成分
抗ヒトIgGモノクローナル抗体(マウス)
 - 抗ヒトグロブリン抗体液(ガンマクロン抗IgG(グリーン))：液剤(別売)
反応系に参与する成分
抗ヒトIgGモノクローナル抗体(マウス)
- 注意) 2及び3については、用手法でD陰性確認試験を行う場合に使用する。

【使用目的】

赤血球上のD抗原の検出(Rh式血液型判定の補助)

【測定原理】

- 本製品を用いて行う試験は、直接血球凝集の原理に基づいている。試験用赤血球に抗D抗体液を加えてインキュベートすると、対応するD抗原が赤血球に存在する場合、特定の抗原抗体反応が起こる。この反応は血球凝集で示され、装置で読み取りが可能となる。血球凝集を示さない場合は、被検赤血球上に対応するD抗原が存在しないことを示す。
- 本製品を用いて行うD陰性確認試験は、間接抗グロブリン試験の原理に基づいている。本製品を用いて人為的に被検血球上に抗体を感作させ、抗ヒトグロブリン試薬

(クームス試薬)を用いて検出する試験である。1で凝集が生じなかった弱いD抗原であっても、本試験により明確な凝集を生じさせることができる。

【操作上の注意】

- 検体：血管穿刺により採血された血液を検体として検査に用いる。全自動輸血検査装置による試験の場合は、必ず抗凝固剤を用いて無菌的に採血する。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14日まで検査することができる。ACD、CPDまたはCPDA-1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：「全自動輸血検査装置 ECHO」、「全自動輸血検査装置ECHO Lumena」、「全自動輸血検査装置 Galileo Neo」及び「全自動輸血検査装置 Neo Iris」(以下、「全自動輸血検査装置」という)による場合は、検査終了時に自動的に結果が読み取られ、判定される。試験管法では、遠心後直ちに肉眼で凝集の有無を観察し判定すること。時間の経過により、偽陰性又は弱い陽性反応となることがある。
- 精度管理：全自動輸血検査装置による場合は、使用日毎に専用のQC試薬を用いて検査を行い、反応性の確認を行うことが必須である。
用手法では、反応性を確認するために、本製品は使用日ごとにD抗原陽性血球及びD抗原陰性血球で検査することが推奨される。D抗原陽性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。
- 検査材料が細菌汚染又は化学的汚染された場合、インキュベーション温度/時間、遠心、材料の保存が不適切な場合、又は試薬の添加ミス等によって、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。
- 全自動輸血検査装置に用いる試薬は、専用試薬を使用すること。
用手法では、使用する装置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。
- 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。
- D陰性確認試験では、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
 - 全自動輸血検査装置による場合
 - マイクロプレート(CMTプレート等)
 - 洗浄液[リン酸緩衝食塩液(15 mmol/L PBS; pH 6.5~7.5)]
 - その他、全自動輸血検査装置による測定に必要な専用試薬
 - 用手法によるD陰性確認試験
 - 試験管(75×12 mm又は75×10 mm)
 - ピペット
 - 生理食塩液又はリン酸緩衝食塩液(15 mmol/L PBS; pH 6.5~7.5)
 - Rhコントロール(ノバクロンRhコントロール)

- ⑤タイマー
- ⑥37℃恒温槽
- ⑦抗ヒトグロブリン試薬（ガンマクロン抗IgG等）
- ⑧IgG感作赤血球（チェックセル等）
- ⑨遠心機（輸血検査専用のものが望ましい）

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

全自動輸血検査装置では、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。測定の概要は以下の通りであるが、使用する全自動輸血検査装置の取扱説明書に記載の方法に従って操作すること。また、D陰性確認試験を的手法で行うこともできる。

1) 全自動輸血検査装置ECHO及び同等の装置による場合

- ①試験を開始する前に、抗D抗体液、その他の測定に必要な試薬及び検体を18～30℃に戻す。
- ②患者検体は試験管を遠心し、赤血球と血漿の層に明瞭に分離する。供血者検体は、セグメントの内容物を試験管に移して遠心し、赤血球と血漿の層に明瞭に分離する。
- ③全自動輸血検査装置に本品、検体、マイクロプレート及びその他測定に必要な専用試薬を搭載し、検査の目的に応じて「血液型」又は「確認用オモテ」のいずれかのアッセイを選択する。
- ④以上の準備が完了した後、Startボタンを押すと、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。装置が自動的に行う操作を以下に記載する。
- ⑤マイクロプレートウェルの所定のウェルに本品及びその他試薬を40 μ L加える。
- ⑥赤血球検体にリン酸緩衝食塩液を加えて3%赤血球浮遊液を調製し、赤血球浮遊液15 μ Lを所定のウェルに加える。
- ⑦18～30℃で「血液型」アッセイの場合は6分間、「確認用オモテ」アッセイの場合は90秒間インキュベートする。
- ⑧マイクロプレートを遠心した後、カメラリーダーによりイメージを読み取り、自動的に判定し、結果を記録する。

2) 全自動輸血検査装置Galileo Neo及び同等の装置による場合

- ①試験を開始する前に、抗D抗体液、その他の測定に必要な試薬及び検体を18～30℃に戻す。
- ②患者検体は試験管を遠心し、赤血球と血漿の層に明瞭に分離する。供血者検体は、セグメントの内容物を試験管に移して遠心し、赤血球と血漿の層に明瞭に分離する。
- ③全自動輸血検査装置に本品、検体、マイクロプレート及びその他測定に必要な専用試薬を搭載し、検査の目的に応じて「ABORH」又は「FWD_ABORH」のいずれかのアッセイを選択する。
- ④以上の準備が完了した後、Startボタンを押すと、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。装置が自動的に行う操作を以下に記載する。
- ⑤マイクロプレートウェルの所定のウェルに本品及びその他試薬を10 μ L加える。

⑥赤血球検体にリン酸緩衝食塩液を加えて1%赤血球浮遊液を調製し、赤血球浮遊液50 μ Lを所定のウェルに加える。

⑦「ABORH」アッセイの場合は、18～30℃で7分間インキュベートする。「FWD_ABORH」アッセイの場合は、そのまま⑧へ進む。

⑧マイクロプレートを遠心した後、カメラリーダーによりイメージを読み取り、自動的に判定し、結果を記録する。

3) 手法でD陰性確認試験を行う場合

- ①試験管に抗D抗体液を1滴（約50 μ L）滴下する。また、別の試験管にRhコントロールを1滴（約50 μ L）滴下する。
- ②生理食塩液を用いて調製した被検血球約2～4%浮遊液を、ピペットを用いて各試験管に1滴（約50 μ L）滴下する。なお、生理食塩液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、36～38℃で15分間インキュベートする。
- ④血球を生理食塩液で少なくとも1回洗浄する。なお、生理食塩液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。
- ⑤各試験管に抗ヒトグロブリン試薬を2滴（約100 μ L）滴下する。
- ⑥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) 3400 rpm（900～1000×g）で15秒間
 - B) 1000 rpm（100～125×g）で1分間
 - C) 使用する遠心機の回転数に適した時間
- ⑦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。
- ⑧陰性の場合、IgG感作赤血球を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) 全自動輸血検査装置では、結果は自動的に判定される。必要に応じて、D陰性確認試験を行う。

2) D陰性確認試験

抗D抗体液で赤血球の凝集が認められ、Rhコントロールの判定が陰性であればD亜型（Weak D又はPartial D）である。

抗D抗体液で赤血球の凝集が認められず、Rhコントロールの判定が陰性であればD陰性である。

Rhコントロールの判定が陽性であれば、D陰性確認試験で得られた結果は有効ではない。

2. 判定上の注意

- 1) 強い冷式自己抗体や蛋白異常による連鎖形成によって偽陽性反応を示すことがある。
- 2) IgG感作により直接抗グロブリン試験陽性を示す血球には、D陰性確認試験を行うことはできない。
- 3) D陰性確認試験において、溶血が認められる場合は、陽性と判定しないこと。
- 4) 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、抗ヒト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。

- 5) D陰性確認試験のRhコントロールが陽性の原因として、直接抗グロブリン試験陽性が考えられる場合、グリシン・塩酸/EDTAやクロロキンニリン酸による赤血球処理を行い、D陰性確認試験を再度行うことができる。Rhコントロールによる試験が再度陽性を示した場合は、D陰性確認試験で得られた結果は有効ではない。
- 6) 抗D抗体液の構成抗体であるIgM型抗体（細胞株D175-2）は、D（VI）と反応しないことが確認されている。
- 7) 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、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⁶、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。

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1～2 w/v%ウシ血清アルブミン加生理食塩液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

本製品の全自動輸血検査装置による試験と、A社抗D抗体試薬及びB社抗D抗体試薬の用手法による試験の間で相関性を検討した。56例のD陽性検体及び56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。

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。57例のD弱陽性検体及び56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り扱うこと。
- 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) 本製品は高温にさらさないこと。
- 2) 本製品は希釈せずに使用すること。
- 3) 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。
- 4) ラベル記載の有効期間内に使用すること。
- 5) 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】

1. キットとしての保管方法及び有効期間
2～8℃で遮光保管 2年間
2. 各構成試薬の保管方法
 - 1) 抗D抗体液：2～8℃で保管
 - 2) 抗ヒトグロブリン抗体液（ガンマクローン抗IgG）：
1～8℃で遮光保管
 - 3) 抗ヒトグロブリン抗体液（ガンマクローン抗IgG（グリーン））：1～8℃で遮光保管

【包装単位】

製品番号	製品名	包装
IMM5350034-2J	自動分析機用 ノバクローン抗D (IgM/IgG) 2本入り	10 mL×2
IMM5350034-5J	自動分析機用 ノバクローン抗D (IgM/IgG) 5本入り	10 mL×5

【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. 日本臨床検査技師会：新輸血検査の実際：11-14（2008）
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. 日本臨床検査技師会：輸血・移植検査技術教本：13-15,
31-33（2016）
6. Mollison PL, Englefriet 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
東京都品川区東品川2-5-8
TEL: 0120 (274) 011

* 【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
東京都品川区東品川2-5-8