

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-536545

(P2007-536545A)

(43) 公表日 平成19年12月13日(2007.12.13)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 K	4 B O 2 9
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 3	
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 5	
	C 1 2 M 1/34 F	
	C 1 2 M 1/34 A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁)		

(21) 出願番号	特願2007-512258 (P2007-512258)	(71) 出願人	506371224
(86) (22) 出願日	平成17年5月3日(2005.5.3)		ディアガスト
(85) 翻訳文提出日	平成19年1月9日(2007.1.9)		D I A G A S T
(86) 国際出願番号	PCT/FR2005/001101		フランス国ルー、アブニュ、ユーージェーヌ
(87) 国際公開番号	W02005/121805		、アピネ、ユラサンテ、パルク、2 5 1
(87) 国際公開日	平成17年12月22日(2005.12.22)	(74) 代理人	100075812
(31) 優先権主張番号	0404853		弁理士 吉武 賢次
(32) 優先日	平成16年5月5日(2004.5.5)	(74) 代理人	100091487
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		弁理士 中村 行孝
		(74) 代理人	100094640
			弁理士 紺野 昭男
		(74) 代理人	100107342
			弁理士 横田 修孝
		(72) 発明者	イブ、パーブロー
			フランス国ムーボ、リュ、ネグリエ、6 2
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液の表現型を検査するための磁性流体の使用および関連用途

(57) 【要約】

本発明は、Fe(III)および酸化状態IIの少なくとも一種の金属M(II)のポリオキソアニオンの混合物から得られる磁性流体の水溶液を用いて血液の表現型を検査する、および/または不規則凝集素試験を行う、および/または提供者および受容者の適合性を調べるための方法に関する。本発明はさらに前記操作を行うためのキットに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

Simonin試験と呼ばれるものを含めて、血液の表現型を検査する、および/または血清または血漿の試料中で不規則凝集素を検査する(不規則凝集素試験)、および/または濃縮赤血球の提供者と受容者との適合性を調べる方法であって、

表現型検査される赤血球の懸濁液またはこの方法で用いられる試験赤血球の懸濁液を、Fe(III)および二価の酸化状態の少なくとも一種のM(II)金属のポリオキソアニオンとの混合物から得られたまたは得られ得る磁性流体の水溶液と接触下に置く工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

前記磁性流体水溶液が界面活性剤を含まないものであることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記磁性流体が、Fe(III)と、Fe(II)、Co(II)、Mn(II)、Cu(II)、またはNi(II)のような遷移金属の第一列の金属の中から選択される酸化状態IIの少なくとも一種のM(II)金属との、ポリオキソアニオンの混合物から調製されるものであることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記磁性流体が、Fe(III)およびFe(II)のポリオキソアニオンの混合物から調製されるものであることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記磁性流体が、カチオンと会合したポリオキソアニオンの前記混合物から調製されるものであることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記カチオンが H^+ 、 CH_3^+ 、 $N(CH_3)_4^+$ 、 $N(C_2H_5)_4^+$ の中から選択されるものであることを特徴とする、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記磁性流体を調製する上でFe(III)およびM(II)について選択される出発金属源が、各々塩化第二鉄および塩化第一鉄であることを特徴とする、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記磁性流体が 1 ~ 3 のモル比のFe(III)およびM(II)金属の初期混合物から調製されるものであることを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記磁性流体が 2 ± 0.1 のモル比のFe(III)およびM(II)金属の初期混合物から調製されるものであることを特徴とする、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記磁性流体が仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願の実施例 1 ~ 8 で開示された方法により得られるものであることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記磁性流体水溶液が緩衝液または生理的溶液で予め希釈されるものであることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記磁性流体水溶液が前記緩衝液または前記生理的溶液で 0.25% ~ 10% (v/v) に希釈されることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記緩衝液が低イオン強度溶液緩衝液であることを特徴とする、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】

試料の赤血球の表面上における血液型抗原の存在、および場合により試料中における抗

10

20

30

40

50

抗原血液型抗体が存在を赤血球凝集反応により調べるための、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載された方法であって、

a) 磁性流体溶液中で前記赤血球の均質懸濁液を得るために、磁性流体溶液と試料中に含有された赤血球の懸濁液、および場合により既知型の試験赤血球の懸濁液を混合し、

b) 工程 a) で得られた赤血球の懸濁液を容器中で、

工程 a) で得られた懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、既知血液型の抗抗原試験抗体と、

工程 a) で得られた懸濁液が既知血液型の試験赤血球の懸濁液であれば、抗抗原血液型抗体を含有してることがあり得る試料と接触させ：

そしてその後インキュベーションし、

c) インキュベーション後の工程 b) で得られた懸濁液を振盪し、

d) 磁性流体の粒子が前記容器の底へ引き寄せられるような磁場を、前記容器へ適用し、

e) 工程 d) で得られた懸濁液を振盪し、

f) 裸眼により、および/または容器中における存在する可能性のある赤血球凝集物の適切な他の読取システムにより読取ることを特徴とする、方法。

10

【請求項 15】

工程 a) において、前記磁性流体溶液が、0.2% ~ 2% (v/v) の範囲内で緩衝液または生理的溶液で予め希釈された、Fe(III)および酸化状態IIの少なくとも一種のM(II)金属のポリオキソアニオンの混合物から得られたまたは得られ得る磁性流体溶液であることを特徴とする、請求項 14 に記載の方法。

20

【請求項 16】

Fe(III)および酸化状態IIの少なくとも一種のM(II)金属のポリオキソアニオンの混合物から得られたまたは得られ得る前記磁性流体溶液が、0.25% ~ 0.75% (v/v) の範囲内、好ましくは0.5%で緩衝液または生理的溶液で予め希釈されたものであることを特徴とする、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

工程 b) の前に、試料中に含有される赤血球の前記懸濁液がプロテアーゼ酵素、好ましくはプロメライン、の作用に予め付されるものであることを特徴とする、請求項 13 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 18】

工程 a) で得られた懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、赤血球の前記懸濁液が工程 a) の最後にプロテアーゼ酵素の作用に付されることを特徴とする、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた懸濁液との接触下に置かれる前の、工程 b) における抗抗原血液型試験抗体が容器中に乾燥形で含有されていることを特徴とする、請求項 13 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

既知血液型の抗抗原試験抗体または試料中に含有されることがあり得る抗抗原血液型抗体が、好ましくはIgM型の凝集性抗体であることを特徴とする、請求項 13 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 21】

工程 b) の最後におけるインキュベーションが室温で5 ~ 15分間、好ましくは10分間にわたり行なわれることを特徴とする、請求項 13 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

振盪工程 c) が30秒間 ~ 2.5分間、好ましくは1分間 ~ 2分間にわたり行なわれることを特徴とする、請求項 13 ~ 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

50

工程 d) において、前記容器への磁場の適用が磁性流体の粒子が垂直軸に沿い前記容器の底へ引き寄せられるように、容器の外側および下に置かれた磁石により行なわれることを特徴とする、請求項 13 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

工程 d) において、前記磁石が強度 10,000 ~ 14,000 ガウス、好ましくは 12,000 ガウスの永久磁石であることを特徴とする、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

工程 d) において、磁場が 2.5 分間 ~ 10 分間、好ましくは 4 分間 ~ 6 分間にわたり前記容器へ適用されることを特徴とする、請求項 23 または 24 に記載の方法。

【請求項 26】

工程 e) において、読取り前における懸濁液の振盪が二回の連続した振盪工程として行なわれ、二回目が一回目より短時間であり、また激しくないことを特徴とする、請求項 13 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

工程 a) において、試料中に含有された赤血球からの赤血球の前記懸濁液が、個体の全血の試料の沈降後に得られる赤血球の沈殿物からのものであることを特徴とする、請求項 13 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

工程 a) において、抗抗原血液型抗体を含有していることがあり得る試料が、個体の全血の試料の沈降後に得られる血漿または血清の試料であることを特徴とする、請求項 13 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

工程 b) において、前記容器がマイクロプレートウェル、好ましくは丸底ウェルであることを特徴とする、請求項 13 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

工程 c) において、振盪が 500 rpm ~ 800 rpm、好ましくは 650 rpm ~ 750 rpm の速度でマイクロプレート振盪機を用いて行なわれることを特徴とする、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

工程 e) において、振盪がマイクロプレート振盪機を用いて二工程で行なわれ、一回目の振盪が 800 rpm ~ 1000 rpm の速度で 1 分間 ~ 2.5 分間、好ましくは 900 rpm の速度で 105 秒間、および二回目の振盪が 350 rpm ~ 550 rpm の速度で 30 秒間 ~ 1 分間、好ましくは 450 rpm の速度で 45 秒間であることを特徴とする、請求項 29 または 30 に記載の方法。

【請求項 32】

工程 b) において：

工程 a) で得られた赤血球の懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた赤血球の懸濁液 40 μ L ~ 50 μ L が、ウェルの底に乾燥形で含有された既知血液型の抗抗原試験抗体と前記ウェル中で接触下に置かれる、

工程 a) で得られた赤血球の懸濁液が既知血液型の試験赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた赤血球の懸濁液 20 μ L ~ 30 μ L が、抗抗原血液型抗体を含有していることがあり得る試料の血漿または血清 20 μ L ~ 30 μ L と前記ウェル中で接触下に置かれる

ことを特徴とする、請求項 29 ~ 31 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

工程 b) において：

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、抗 A 試験抗体および抗 B 試験抗体含有の別々な容器に入れられ、そして

個体からの血漿または血清の試料が、型 A、好ましくは A1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液含有の別々な容

10

20

30

40

50

器に入れられることを特徴とし、

工程 f) において、前記の各容器中での赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から個体 A B O 型を決定しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の A B O 血液型検査のための、請求項 1 3 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

工程 b) において：

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、試料の赤血球上における存在または不在を検査判定する血液型抗原に特異的な試験抗体を含有する別々の容器に接触下に入れられ、ここで各容器が唯一の抗体特異性を含有していることを特徴とし、

10

工程 f) において、前記の各容器中での赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から求める血液型の抗原に関する個体の表現型を決定しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の、Simonin 試験以外の血液表現型検査のための、請求項 1 3 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

工程 b) において：

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、抗 A 試験抗体および抗 B 試験抗体を含有する別々の容器に接触下に入れられ、

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、抗原 A および抗原 B 以外の、血液型抗原に特異的な試験抗体を含有する他の別々の容器に接触下に入れられ、ここで各容器が唯一の抗体特異性を含有しており、

20

個体からの血漿または血清の試料が、型 A、好ましくは A 1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液を含有する他の別々の容器に接触下に入れられることを特徴とし、

工程 f) において、前記の各容器中での赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から、個体の A B O 型を調べて、求める血液型の他の抗原に関する個体の表現型を決定しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の Simonin 試験も含めた血液表現型検査のため

30

【請求項 3 6】

a) 血漿または血清の前記試料を、第一容器中で、存在の可能性ある不規則抗体が試験赤血球と特異的に結合しうる条件下で、既知表現型の試験赤血球の懸濁液とインキュベートし、

b) 磁性流体溶液の前記赤血球の均質懸濁液を得るために、工程 a) で得られた混合物へ磁性流体溶液を添加し、

c) 磁性流体中に含有された磁気粒子により前記容器 (赤血球プレート) の底へ前記の赤血球を引き寄せさせるために、前記容器の外側および下に置かれた磁石により前記容器へ磁場を適用し、次いで場合により得られる上清を除去し、

40

d) 場合により洗浄液を添加して赤血球および磁気粒子の沈殿物を洗浄し、次いで赤血球のプレティング後に上清を除去し、この工程を数回繰り返すことができ、

e) 工程 c) または工程 d) で得られた赤血球および磁性流体の懸濁液の全体または試料を第二容器中へ移し替え、ここで前記第二容器が、その下部内壁に、存在の可能性ある不規則抗体 / 試験赤血球複合体を該壁において認識しかつそれと結合しうる抗グロブリンを被覆してなるものであり、

f) 磁性流体中に含有された磁気粒子により前記容器の底へ赤血球が引き寄せられるよう、前記第二容器へ磁場を適用し、そして

g) 容器の下部壁における赤血球の分布を、裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムによる読取る

50

工程を含んでなることを特徴とする、受容者の血漿または血清の試料中における不規則抗体の検査および/または同定のための、請求項 3 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

工程 b) において、前記試験赤血球の懸濁液への磁性流体溶液の添加が、血清または血漿の前記試料の添加前に行なわれることを特徴とする、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

工程 e) の前に、先の工程で得られた洗浄赤血球の懸濁液が、抗免疫グロブリン溶液と第一容器中で接触下に置かれ、場合により振盪およびインキュベーション後に、

得られる赤血球および磁性流体の懸濁液の全体または試料が第二容器中へ移し替えられ、ここで前記第二容器が、その下部内壁に存在の可能性がある抗免疫グロブリン/不規則抗体/試験赤血球複合体を該壁において認識しかつそれと結合しうる抗グロブリン、好ましくは抗種抗体を被覆してなるものである：

ことを特徴とする、請求項 36 または 37 に記載の方法。

【請求項 39】

請求項 36 ~ 38 のいずれか一項に記載された不規則抗体の検査および/または同定のための方法において、該方法の工程 a) が、

受容者の血漿または血清の試料が、提供者の赤血球に存在する血液型抗原に対する存在しそうな抗体を前記赤血球と結合させうる条件下で、提供者の赤血球の懸濁液と前記第一容器中でインキュベートされるものであり、

以降の工程が同一である

ことを特徴とする、提供者および受容者の赤血球濃縮物間の適合性を調べるための、請求項 3 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

試料の赤血球の表面上における血液型抗原の存在、および場合により試料中における抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるための装置であって、

a) 請求項 1 ~ 13 に記載されているような磁性流体溶液を含有している容器、

b) 試験される試料の赤血球の懸濁液を含有している容器、

c) 場合により乾燥形で抗抗原血液型抗体を含有している一以上の反応容器、および場合により既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している一以上の容器、

d) 前記容器の外側および下に置かれる少なくとも一個の磁石または磁石の会合、

e) 前記容器の振盪システム、および場合により

f) 各容器で赤血球凝集物の存在を評価しうる読取機：

からなることを特徴とする装置。

【請求項 41】

前記反応容器が好ましくは丸底または V 形底のマイクロプレートウェルであることを特徴とする、請求項 40 に記載の装置。

【請求項 42】

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している容器が型 A、好ましくは A1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および型 O の試験赤血球の懸濁液を別々に含有している、および

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が、抗 A 抗体および抗 B 抗体を別々に含有している：

ことを特徴とする、個体からの全血の試料の ABO 血液型検査のための、請求項 40 または 41 に記載の装置。

【請求項 43】

容器が試料の赤血球上における存在または不在が検査される血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有していることを特徴とする、個体からの全血の試料の、Simonin 試験以外の血液表現型検査のための、請求項 40 または 41 に記載の装置。

【請求項 44】

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している前記容器が型 A、好ましくは A1 の試験

10

20

30

40

50

赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液を別々に含有していることを特徴とし、および

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が、抗 A 抗体、抗 B 抗体と、試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、A B O 以外の血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有していることを特徴とする、個体からの全血の試料の、Simonin 試験を含めた、血液表現型検査のための、請求項 40 または 41 に記載の装置。

【請求項 45】

a) 抗抗原血液型抗体を別々に含有している一以上の反応容器、

b) 場合により緩衝液または生理的溶液、好ましくは低イオン強度溶液緩衝液で希釈されている、磁性流体溶液、

c) 場合により、既知血液型の試験赤血球の懸濁液、および

d) 場合により、反応容器の外側および下に置かれる一以上の磁石：

からなることを特徴とする、試料の赤血球の表面上における血液型の抗原の存在、および場合により試料中における抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるためのキット。

【請求項 46】

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している前記容器が、型 A、好ましくは A1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液を別々に含有し、

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が、抗 A 抗体および抗 B 抗体を別々に含有していることを特徴とする、個体からの全血の試料の A B O 血液型検査のための、請求項 45 に記載のキット。

【請求項 47】

表現型決定される試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、抗原 A および抗原 B 以外の、血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有した容器をさらに含んでいることを特徴とする、個体からの全血の試料の Simonin 試験を含めた血液表現型検査のための、請求項 46 に記載のキット。

【請求項 48】

前記容器に含有された前記抗抗原血液型抗体が乾燥形をとることを特徴とする、請求項 45 ~ 47 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 49】

前記容器が好ましくは丸底または V 形底のマイクロプレートウェルであることを特徴とする、請求項 45 ~ 48 のいずれか一項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の背景】

【0001】

本発明は、Fe(III) および二価の酸化状態の少なくとも一種の M(II) 金属のポリオキソアニオンの混合物から得られる磁性流体の水溶液を用いて血液の表現型を検査する、および / または不規則凝集素試験を行う、および / または提供者および受容者の適合性を調べるための方法に関する。本発明はさらに前記方法を行うための装置およびキットに関する。

【0002】

現在、輸血は献血から得られた濃縮赤血細胞（球状濃縮物）の調製物を静脈内投与することからなっている。

【0003】

輸血に際しての主要な危険は、受容者（輸血される人）の体内で抗体とその血液型抗原とが結合する可能性と関連している。実際、赤血細胞（red blood cell）または赤血小体（red blood corpuscle）とも呼ばれる赤血球（erythrocyte）の表面には、免疫系により認識されて免疫応答を誘発しうる赤血球膜抗原、特に血液型（または系）抗原、がみられる。

10

20

30

40

50

【0004】

提供者の赤血球抗原に対する循環抗体を受容者が有していなければ、提供者からの赤血細胞は受容者の血液と適合することが知られている。

【0005】

血液型を構成する赤血球膜抗原の抗原変異体の全体の中では、二十種以上の赤血球抗原系がこれまでヒトで同定されている：抗原AまたはBのABO系、抗原D、Eまたはe、およびCまたはcのRhesus系、抗原KまたはkのKell系、Duffy (Fy_a、Fy_b)、Kidd (Jk_a、Jk_b) またはMNS、Lewisなどの実際にはさほど用いられていない他の系。同一群の赤血球抗原を有する個体は同一の血液型に属する。いくつかの抗原系が用いられると、血液型は一層複雑で多くなる。

10

【0006】

自己免疫疾患の場合のような病的状態は別として、個体の血清は赤血球抗原に対して二種類の抗体を含有しうる：

(i) ABO系の抗原に対するいわゆる“規則”抗体(例えば、B型個体では抗A抗体)。これらはインビトロで赤血細胞を凝集させることができるIgM型免疫グロブリンである。Beth-VincentおよびSimonin試験において、個体のABO型を決定するためにこの現象が用いられ、Beth-Vincent試験では赤血細胞に保有される抗原(抗原表現型)を決定することができ、Simonin試験では相補性試験を行なうことができる、すなわち個体血清中に存在する循環抗Aおよび/または抗B抗体を決定することができる。

【0007】

Beth-Vincent試験では、個体の赤血細胞が、試験血清または試験抗体の存在下に置かれ、これら各々がABO系の抗原に対する特定種類の抗体を有している。そのため、これは赤血細胞と、試験血清との凝集試験である。

20

【0008】

カウンター試験とも呼ばれるSimonin試験では、循環抗体を含有した個体の血清が、試験赤血細胞または試験赤血球の存在下に置かれ、これら各々がABO系の特定抗原型に属している。そのため、これは血清と、試験赤血細胞との凝集試験となる：

(ii) 血清または血漿中の存在が任意である、非ABO系の抗原に対するいわゆる“不規則”(または“免疫”)抗体。これには通常、IgGであり、外来赤血細胞による抗原刺激に際して出現する、例えば輸血に際して、または母血液型に属しない胎児赤血球抗原に対する母児免疫反応により妊娠に際して(特に出産に際して)、一種以上の抗原に対して免疫性を与えるものである。

30

【0009】

これらのいわゆる不規則抗体に関する試験は不規則凝集試験と呼ばれている。この試験は個体の血液で様々な赤血球抗原に対するIgGの存在または不在を検出するために用いられている。この試験では抗原が知られている試験赤血細胞上のこれらのIgGの結合について証拠が探求される。試験は多くの種類の赤血細胞で並行して進められ、結果の比較から存在するIgGを推定することができる。

【0010】

Rhesus Dのような最も免疫原性の強い抗原と、他のRhesus (E > c > e > C)、Kell (K)、Duffy (Fy_a、Fy_b)、Kidd (Jk_a、Jk_b) などについては、危険性がさらに高い。

40

【0011】

實際上これらすべての抗原が輸血に際して考慮されることはなく、そうでなくとも、ある抗原群が非常にまれであるという事実が加わって、正しい血液型は決してそのときに得られることはない。標準輸血はABO系に加えRhesus D (Rh⁺またはRh⁻)の型を考慮するのみである。不規則凝集素の出現という危険のある状況下では、いくつか他の系、特にRhesus CおよびEとKell、および他の系も考慮される。これら不規則凝集素の存在または出現の危険を考慮して、提供者血液型と受容者血液の場合との適合性を考えると、これらの高い危険な状況については問題となる。

50

【 0 0 1 2 】

そのため、不規則抗赤血球抗体を有する受血患者、または特に不規則抗赤血球抗体を有していない複数回輸血患者および妊娠女性のように高い危険を有する状況下では、受容者の抗体に対するまたはそれが出現しやすい抗原を提供者の赤血細胞が有しないように輸血される赤血球濃縮物の単位を選択することは必須である。適合性のこの証明は、受容者の血清または血漿の存在下で提供者の赤血小体との直接適合性の試験を行なうことにより、赤血球濃縮物の投与前に、これらの患者において、さらに予防的に全受容者において義務とされている。不規則凝集素試験に用いられる技術において凝集および/または溶解反応が観察されてはならないのである。

【 0 0 1 3 】

臨床輸血実施に際して、赤血小体の表面上における血液型抗原の検査および同定による赤血球表現型の判定（加えて対応規則抗体の存在が検査される A B O 系を特に除く）には、受容者と提供者を要する。

【 0 0 1 4 】

受容者および提供者の工程において、危険のある状況との相関として、受容者で適合赤血球濃縮物を利用するために、三工程の赤血球表現型検査が存在する：

A B O 型表現型（または A B O 型）および標準 Rhesus（D 抗原の存在または不在）の決定、

Rhesus Kell 表現型（C、E、c、e、および K 抗原の存在または不在）の決定、および

広域（または広範）表現型（Duffy 系抗原 F y a および F y b、Kidd 系抗原 J k a および J k b、M N S s 系抗原 S および s の存在または不在）の決定、
加えて受容者の血清で現れる危険および/または不規則抗体の種類に応じて、他の抗原も検査される。

【 0 0 1 5 】

提供者および/または受容者赤血球の表面における血液型抗原の存在または不在を検査および同定するために実施され常用される技術、あるいは提供者および/または受容者の血清または血漿において規則的（A B O 型の場合）なまたは不規則な凝集素試験の枠内で不規則な抗抗原血液型抗体の存在または不在の検査および同定を目的として常用される技術は、当業者に周知であるため、ここでは記載しない。

【 0 0 1 6 】

表現型検査の場合、通常それらは検査される抗原の存在または不在に適した抗体を含有する試験血清を用いた検査からなる。好ましくは、これらの試験血清中に含有された抗体は本来は凝集するものであり（I g M または I g A）、試験血清中に存在する抗体に対応した抗原を有していれば、表現型検査される赤血球の全体的または部分的に凝集を得られる。それにもかかわらず、非凝集試験抗体（I g G 型）を用いることも可能であり、その際に凝集は抗免疫グロブリン（いわゆる間接クームス技術）により開始され、赤血細胞に結合された非凝集試験抗体の存在が固相に結合された抗免疫グロブリンにより視覚化される。凝集の読取り、すなわち抗免疫グロブリンを介して固相に結合された試験抗体（いわゆる免疫接着技術）で感作された赤血細胞の読取りは、裸眼または適切な読取機で行なわれる。

【 0 0 1 7 】

試験される患者血清または血漿試料中における、A B O 型についての規則的なまたは不規則な凝集素試験の枠内での不規則な抗抗原血液型抗体の検査および同定では、患者の血清または血漿が、いくつかの血液型系（A B O、Rhesus、Kell、Duffy、Kidd、または M N S s など）で既知抗原性の試験赤血球（試験赤血小体または試験赤血細胞とも呼ばれる）の存在下に通常置かれる。存在の可能性ある抗体がたいがい非凝集型のものである不規則凝集素試験に際して用いられる技術は、抗免疫グロブリンによる凝集または抗免疫グロブリンで被覆された固相での免疫接着による間接クームス型のものである。

【 0 0 1 8 】

10

20

30

40

50

不規則凝集素試験の場合、第一工程ではいわゆるスクリーニング赤血細胞団（最大量の抗原を含有するように選択された異なる型の二または三種赤血細胞）が用いられ、これが不規則抗体の存在または不在を（同定ではなく）検出するのである。スクリーニングが陽性であれば、存在する不規則抗体の特異性の同定が、ほぼ全部既知の血液型系に属する様々な表現型の通常十種の赤血細胞を含有した少なくとも一つの、いわゆる同定赤血細胞団により行なわれる。

【0019】

提供者の赤血小体が受容者の血清の存在下に置かれる適合性試験に際して、第一工程の遠心が、提供者（A B O不適合、I g M、またはI g A不規則抗体）の赤血細胞を凝集させる抗体の、受容者血清中における存在と関連した凝集の存在を観察するために行なわれ、この第一工程は凝集によるのでなければ、抗免疫グロブリン（クームス間接抗グロブリン技術）による抗体の検査へと引き継がれることにも留意すべきである。

10

【0020】

輸血の分野で表現型検査または不規則凝集素試験に用いられる技術には多数の変法があり、これらの技術は乳白色プレート上、試験管またはマイクロプレートウェルで手動式によるか、または試料および試薬を分配するシステム、攪拌器、培養器、および実施される技術にプログラムが合わされた自動読取機を用いて完全に自動化されている。

【0021】

用いられる技術の中で、抗抗原血液型抗体または血液型抗原の存在が、上部張り出し部がインキュベーション部として用いられ、カラム用に選択された濾過入口部で、遠心後の凝集赤血小体をカラムに通さないような、透明濾過ミニカラム（“Sephadex^{（登録商標）}”またはマイクロビーズゲル）を用いての遠心後における赤血細胞の凝集の呈示に基づく技術が挙げられる（特に特許E P 0 1 9 4 2 1 2または特許E P 0 7 5 5 7 1 9参照）。

20

【0022】

他の技術として、また、表現型検査または不規則凝集素試験が、赤血細胞のみが遠心に際して障壁を越えられるように密度が選択されたゲルまたは液体からなる分離障壁を用いた遠心と、それに続く免疫接着後における抗体で感作された赤血細胞の呈示に基づいており、感作赤血細胞を捕捉して特徴的印象を与えるために反応容器がその下部において抗免疫グロブリンで被覆されている、という技術も挙げられる。これらの技術の中では、特許E P 0 0 5 8 7 8 0が挙げられ、感作赤血小体を洗浄する工程を省ける利点を有した、反応混合物が高密度の層（牛アルブミンまたはポリビニルピロリドンの溶液）で遠心される血液表現型検査工程について開示している。赤血球上に存在する血液抗原またはこのような抗原と結合する抗体の存在を調べる一般的工程について開示している、特許W O 9 8 / 0 2 7 5 2も挙げられる。この工程では、密度が抗体を含有した液体のものより大きい、赤血球のものよりは小さい分離媒体を用いた遠心により、感作されたまたは感作されていない赤血球が非結合抗体から分離され、抗免疫グロブリンが固定された反応容器の下部壁で感作赤血球が非感作赤血球から分離され、非感作赤血球が容器の底に集められるため、得られる最終像の分析は被検体の存在または不在について特異的である。

30

【0023】

表現型検査または不規則凝集素試験に用いられる技術の変法の中では、磁気粒子を用いることで細胞と結合しうる被検体について試料中で検査するために通常開発されてきたものも挙げられ、これは特に規則凝集素試験または表現型検査用の抗グロブリン技術（凝集または固相での免疫接着による間接クームス）のような凝集に基づく技術で特に必要な操作、遠心を特に省くためであるか、または不規則凝集素試験の場合では次の工程で用いられる抗免疫グロブリンを認識しうる非特異的抗体を除く上で感作赤血細胞を洗浄することが必要な場合である。

40

【0024】

実際に遠心工程は、特に遠心機の費用およびそれに必要な場所、必要な取扱いなどのため、完全に自動化させたい方法で実施することが常に難しいのである。

【0025】

50

磁気粒子は、リガンド レセプターまたは抗体 抗原複合体の検出に長い間用いられてきた、例えば下記特許で開示された方法が挙げられる：

特許 W O 9 2 / 1 7 7 8 1 は、リガンドと結合しうる抗体のような物質で被覆された、異なる色をとりうる磁気ラテックス粒子がインキュベートされ、次いでインキュベート混合物に磁場を適用し、最後に凝集の存在または不在を観察する、試料中でリガンドの存在を調べる方法について開示している、または

【 0 0 2 6 】

特許 E P 0 4 2 6 1 7 0 は、リガンドと結合しうる抗原または抗体で感作された磁気ゼラチン粒子がインキュベートされ、次いでインキュベート混合物に磁場を適用し、最後に凝集の存在または不在を観察する、試料中でリガンドの存在を調べる方法について開示し、容器、特に V 底マイクロプレートウェルが傾けられた後に、これら粒子の結合特徴が観察されるといふ点で前記方法は特徴付けられる。

10

【 0 0 2 7 】

このような磁気粒子は、免疫血液学で表現型検査および / または不規則凝集素試験にすでに用いられている。このような用途を開示している文献の中では、以下が特に挙げられる：

【 0 0 2 8 】

磁気ラテックスビーズに結合された抗体または抗原の磁気マーカーを用いる免疫試験法について開示している特許 E P 0 3 5 1 8 5 7。これらのマーカーは免疫反応工程で検査同定される物質と結合でき、次いで磁気マーカー粒子はウェルの下に置かれた磁石を用いて磁場の作用下で測定容器中における壁の表面の既定範囲に集められるが、この工程は、測定容器の壁の表面の既定範囲に固定された、同定すべき物質と特異的に結合しうる物質を伴う。特に、マイクロプレートウェルの底に予め結合された赤血球が受容者の血清で感作され、次いで（洗浄液の吸引および注入により）洗浄され、次いで抗免疫グロブリンで被覆された磁気ラテックス球が前記ウェルへ加えられてから、磁場が適用されるという、免疫接着による不規則凝集素試験技術が開示されている；

20

【 0 0 2 9 】

試料中に存在し得る生物学的物質の免疫接着による検出方法について開示している特許 E P 0 5 2 8 7 0 8。この方法では、表現型検査されるまたはスクリーニングおよび / または同定団として用いられる赤血球がマイクロプレートの底に予め結合されている。（表現型検査の場合は）試験血清に、または（不規則凝集素試験の場合は）試験される受容者の血清に、こうして結合された赤血球を感作させた後、ウェルが洗浄され、次いで抗免疫グロブリンで被覆された磁気ラテックスビーズが加えられる。この方法では求める物質と特異的に結合していない磁気粒子を除去するために、二種類の連続磁場（垂直および円形）が特に適用される；および

30

【 0 0 3 0 】

試料中に含まれる物質と結合しうる磁気粒子を磁場の存在下でポリカチオンまたはポリアニオン性化合物により共同凝集させる方法について開示している、特許 E P 0 2 3 0 7 6 8。この文献は、全血の試料およびスクシニル 血清牛アルブミンで被覆された磁性流体（ $FeCl_2$ / $FeCl_3$ ）が、磁石上に置かれた容器へ連続的に加えられ、こうして得られた赤血球の粒子の凝集物が磁石の方へ引き寄せられることで、デカンテーションにより上清血漿が回収される、赤血細胞を含有した全血の試料の血漿を分離するための方法について特に開示している。蛍光 R h + 赤血細胞の懸濁物の存在下で培養され、次いでその混合物にスクシニル磁性流体およびポリブレンが連続的に加えられ、赤血細胞が磁場の適用とデカンテーションにより数回洗浄されてから、抗免疫グロブリンが加えられるという、先の方法に従い調製された血漿の試料中における抗 R h（抗 D）抗体の存在を定量しうる方法もこの文献で開示されている。血漿試料中の抗 R h 抗体の定量は、所定容量中で観察される蛍光量のゆらぎを分析することで、実験対照との比較により評価される。

40

【 0 0 3 1 】

抗免疫グロブリンで被覆された磁気ビーズまたは改変磁性流体を用いるこれら後者の技

50

術は遠心工程を避けられるとしても、試験血液細胞または表現型検査される血液細胞で予め被覆された固相の使用を必要とするし、これは非常に不安定であるため最終使用者により調製されねばならない。加えて、特に特許EP0230768ではある磁気組成物の使用が磁場の適用後に赤血細胞の非特異的共同凝集を引き起こし、そのことが赤血球抗抗原抗体の存在下で赤血細胞の特異的凝集を誘起する可能性を決定的に排除してしまうが、これが輸血の分野における基準技術とされている。

【発明の概要】

【0032】

このように、完全に自動化されうる磁場の適用により遠心工程が置き換えられ、得られる最終像を著しく妨げずに試験抗体（試験血清）を凝集させて特異的凝集を誘起することにより赤血細胞の表現型を検査しうる、マイクロプレートのように実用的で入手可能な支持体で実施されうる迅速で簡単な方法の必要性が残されたままであり、この方法もABO表現型検査の枠内でSimonin試験（カウンター試験）に適用しうるのである。用いられる磁気組成物が、磁場の適用後に赤血細胞と結合して、場合によりこれらの赤血細胞で抗原部位の遮蔽を避けることで赤血細胞の非特異的凝集を引き起こさないならば、このような方法は一層有利となるであろう。用いられる磁気組成物が、特に不規則凝集素試験および/または適合性試験、さらには非凝集試験血清の使用を要する表現型検査で、固相上における赤血細胞の免疫接着技術をその存在下で行なえ、この種の技術で得られる最終反応の像を前記磁気組成物が有意に妨げることがないならば、この方法はさらに一層有利となるであろう。

10

20

【0033】

これがまさに本発明の目的である。

【0034】

本発明者らは、Fe(III)および酸化状態IIの少なくとも一種のM(II)金属（例えばFe(II)）のポリオキソアニオンの混合物から得られる、界面活性剤を含まない希釈磁性流体水溶液、すなわち仏国特許2461521号で公開された出願の実施例1～8または下記例で開示された方法で特に得られるような磁性流体と接触下に置かれた赤血球が、前記容器の外側および下に置かれた磁石により誘導される磁場の作用下により、それらを含む容器の底へ、磁性流体粒子と共に引き寄せられるだけでなく、これらの赤血球が保有する抗原に対するIgM型の凝集抗抗原血液型抗体との接触下でこれらの赤血球が置かれた場合に、さらにこれら赤血球の特異的凝集をこの同調（entrainment）が同時に引き起こすことも明らかにしたのである。これは特許EP0230768で開示された方法とは異なり、磁性流体の磁気粒子と非特異的に結合しうる化合物を赤血球へ加えることがない。

30

【0035】

本発明者らは、こうして希釈された磁性流体の溶液に含有される磁気粒子の存在がこの特異的凝集を顕著に妨げることなく、裸眼または赤血球凝集物の存在または不在を検出しうるいずれか適切な自動読取システムにより、前記凝集が容易に実証されうることも、予想外に明らかにしたのである。

【0036】

本発明者らは、赤血球の表面に結合した化合物を特異的に認識しうるリガンドで被覆された固相と結合する赤血球の能力を、後者がこの磁性流体に含有された磁気粒子の存在下にある場合に、このような希釈磁性流体溶液がもはや顕著に妨げないことも、意外なことに明らかにしたのである（固相免疫接着技術）。

40

【0037】

このように、本発明はいわゆるSimonin試験を含めて、血液の表現型を検査する、および/または血清または血漿の試料中で不規則凝集素を検査、および/または同定する（不規則凝集素試験）、および/または濃縮赤血球の提供者と受容者との適合性を調べるための方法を目的として有し、表現型検査される赤血球の懸濁液またはこの方法で用いられる試験赤血球の懸濁液が、好ましくは界面活性剤を含有しない磁性流体の水溶液との接触下

50

に置かれる工程を含み、前記の磁性流体が Fe (III) および酸化状態 II の少なくとも一種の M (II) 金属 (例えば Fe (II)) のポリオキソアニオンの混合物から得られるまたは得られそうなもの、特に仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願の実施例 1 ~ 8 または下記例で開示された方法で得られるような磁性流体であることを特徴とする。

【発明の具体的説明】

【0038】

本記載において、赤血球、赤血細胞、および赤血小体という用語は、同一の血液細胞を示すために差異なく用いられる。

【0039】

好ましくは、本発明の方法で用いられる磁性流体溶液は、水性媒体でしかも好ましくは前記赤血球が前記磁性流体溶液との接触下に置かれた場合に、特に赤血球の溶解を避けるために界面活性剤 (または洗剤) の不在下で、希釈物からも得られる。

10

【0040】

界面活性剤を含まない水溶液中、磁性流体の界面活性剤を含まない水性媒体で希釈された溶液とは、仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願の実施例 1 ~ 8 または下記例で開示された磁性流体調製法で直接得られたまたは直接得られ得る磁性流体が、界面活性剤を含まない水溶液であり、本発明の方法での使用前にこの磁性流体を希釈する目的で前記方法によりこの磁性流体を得た後で用いられる溶液も界面活性剤を含まない水溶液であることが、ここでは明記される。

【0041】

好ましい態様によると、前記の磁性流体溶液は Fe (III) と、好ましくは Fe (II)、Co (II)、Mn (II)、Cu (II)、または Ni (II) のような遷移金属の第一列の金属の中から選択される、酸化状態 II の少なくとも一種の M (II) 金属との、ポリオキソアニオンの混合物から調製されることを特徴とする。

20

【0042】

好ましくは、前記の磁性流体溶液はカチオン Na、K⁺、および NH₄⁺ より大きな水溶解度をポリオキソアニオンに付与しうる H⁺、CH₃⁺、N(CH₃)₄⁺、N(C₂H₅)₄⁺、またはいずれか他のカチオンのようなカチオンと会合した Fe (III) および少なくとも一種の M (II) 金属のポリオキソアニオンの混合物から調製されることで特徴付けられ、これらのカチオンは特に HCl、CH₃COOH のような適切な酸または水酸化テトラメチルアンモニウムもしくはテトラエチルアンモニウムに有される。

30

【0043】

好ましくは、前記の磁性流体溶液は、前記磁性流体を調製する上で Fe (III) および M (II) について選択される出発金属源が：

Fe (III) については、仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願、第 4 頁、1 ~ 2 行目に掲載されたもの、特に塩化第二鉄、および

M (II) については、仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願、第 4 頁、3 ~ 6 行目に掲載されたもの、特に塩化第一鉄の中から選択される塩であることにより特徴付けられる。

【0044】

好ましくは、前記の磁性流体溶液は酸化状態 II の初期モル比が 2 ± 1、さらに好ましくは 2 ± 0.5、2 ± 0.25、または 2 ± 0.1 であり、Fe (III) および酸化状態 II の M (II) 金属間で 2 の初期モル比が最も好ましい、という点を特徴とする Fe (III) および M (II) 金属の混合物から調製される。

40

【0045】

好ましくは、Fe (III) 塩および酸化状態 II の M (II) 金属の初期混合物に、水酸化ナトリウム、水酸化テトラメチルアンモニウム、またはテトラエチルアンモニウムのような適切な強塩基が加えられる。

【0046】

好ましくは、本発明による方法は仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願の実施例

50

1～8で開示された方法または下記例で記載されたようなものにより前記の磁性流体が得られる、という点を特徴とする。

【0047】

さらに好ましくは、本発明による方法は前記の磁性流体水溶液が緩衝液または生理的溶液で予め希釈される、という点を特徴とする。

【0048】

ある用途では特にそれが反応感度または速度を改善する（しかしながら、試験の非特異性を高めることはない）という問題である場合には、低イオン強度溶液（L I S S）緩衝液が用いられる。

【0049】

当業者であれば、緩衝液または生理的溶液とは赤血細胞の溶解を避けるために細胞生物学、特に免疫血液学の分野で典型的に用いられている緩衝液を意味している、と理解するであろう。このような緩衝液または溶液は、例えば0.9% NaCl溶液（約0.15M NaCl）のモル濃度と類似するように調整されたモル濃度を有する、6.8～7.5の生理的pHの緩衝液である。当業者に周知のpH7.4のPBSリン酸緩衝液が特に挙げられるが、限定されない。

【0050】

L I S S緩衝液の組成はここでは示さないが、これらの緩衝液は凝集反応を促進する上で免疫血液学では周知である。これらの緩衝液は免疫血液学用試薬業者から特に入手する（例えば、下記組成のL I S S緩衝液が挙げられるが、限定されない：16g/Lのグリシン、0.03MのNaCl、および0.015Mのリン酸塩、pH6.7）。

【0051】

好ましい態様によると、本発明の方法は前記の磁性流体溶液が前記の緩衝液または前記の生理的溶液で0.25%～10%（v/v）、好ましくは0.25%～5%、0.25%～2.5%、0.25%～1%、0.25%～0.75%に希釈される、という点を特徴とする。

【0052】

0.25%～1%、特に0.5%の希釈が、凝集の方法により表現型検査する上で特に好ましい。適合性試験（受容者の血清と提供者の赤血細胞との直接適合性の決定、前記参照）の場合には、1%より大きな、好ましくは2%～10%の希釈も好ましいことが付記される。

【0053】

赤血球凝集反応による血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在の決定に関する発明による方法の場合には、反応容器がマイクロプレートウェル、好ましくは丸形またはV形底のウェルであることも好ましい。

【0054】

発明による方法において、磁場の適用は好ましくは反応容器の外側および下に置かれた永久型の磁石により得られ、前記磁石は8,000～16,000ガウス、好ましくは10,000～14,000ガウスの強度を有することが好ましく、12,000ガウスが好ましい強度である。

【0055】

赤血球凝集反応により試料中赤血球表面上の血液型抗原の存在、場合によって抗抗原血液型抗体の存在を検査するための方法とは、赤血小体の表面上における血液型抗原の検査および同定に相当する赤血球表現型検査（ここでは血液または赤血細胞表現型検査とも呼ばれる）のための方法をここでは具体的に指し示す意味であり（加えて対応規則抗体の存在が検査される、特殊なABO系（いわゆるSimonin試験）は除く）、これは受容者および提供者と等しく関係している。

【0056】

本発明の方法がABO型についていわゆるSimonin試験を除く血液表現型検査のみに関する場合、それは具体的に言及される。

10

20

30

40

50

【0057】

本明細書において、既知血液型の抗抗原試験抗体とは、それに対する抗原を有した赤血球を認識してそれと結合しうる特異性が知られたポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、または組換え抗体を示す意味である。

【0058】

既知血液型のこれら抗抗原試験抗体は、凝集反作用の支持体として働く、または場合により支持体で表現型検査される赤血球を前記抗体と接触下で置くために用いられる容器に溶解状態の液体形または乾燥形で用意される。

【0059】

好ましくはなお、これらの抗体は凝集反応による本発明の方法において、いわゆる前記抗体の特異性が対象とする型の抗原を有する赤血球の懸濁物を凝集させる、IgMのような凝集型のものであり、これは抗免疫グロブリンの介助なしで、当業者に周知であるかまたはこのような抗体の使用に係わる業者から提供されるデータシートで指示された適切な条件下（例えば、室温または37℃で塩水媒体中などのような）におけるものである。

【0060】

固相免疫接着技術によって、本発明に従い表現型検査が行なわれるある種の血液型抗原にとり好ましいかまたは必要である本発明による表現型検査の方法において、特に：

抗免疫グロブリンでまたは特異的試験抗体/赤血球複合体を特異的に認識してそれと結合しうるリガンドで下部内壁が予め被覆される最終反作用の容器を用いて、前記表現型検査が行なわれる場合、または

試験抗体に対応する抗原を有した赤血球を特異的に認識してそれと結合しうる前記試験抗体で下部内壁が予め被覆される最終反作用の容器を用いて、前記表現型検査が行なわれる場合において、既知血液型の前記抗抗原試験抗体、例えば前記抗原を認識しうるIgGまたはそれらの断片は本来は非凝集性でもよい。

【0061】

第一の具体態様によると、本発明は試料の赤血球の表面上における血液型抗原の存在、および場合により試料中における抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるための本発明による方法に関し：

a) 磁性流体溶液中で前記赤血球の均質懸濁液を得るために磁性流体溶液と、試料中に含有された赤血球の懸濁液、および場合により既知型の試験赤血球の懸濁液を、特にガラスボトル中において混合し、

b) 工程a)で得られた赤血球の懸濁液を、容器中で、

工程a)で得られた懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、既知血液型の抗抗原試験抗体と、

工程a)で得られた懸濁液が既知血液型の試験赤血球の懸濁液であれば、抗抗原血液型抗体を含有してることがあり得る試料と接触させ：

そしてその後インキュベーションし、

c) 培養後に工程b)で得られた懸濁液を振盪し、

d) 磁性流体の粒子が前記容器の底へ引き寄せられるような磁場を、前記容器へ適用し

e) 工程d)で得られた懸濁液を振盪し、

f) 裸眼によるおよび/または容器中における赤血球凝集物の存在可能性のいずれか他の適切な読取システムによる読取りからなることを特徴とする。

【0062】

具体的方法によると、前記方法の工程a)における混合は試験前、一時間前、数時間前、一日前、または数日前に行なわれるか、あるいは場合により特にそれが既知型の試験赤血球の懸濁液を磁性流体溶液と混合する問題であれば、その混合物は業者から得てもよい。これは本方法のすべてに関する、特に既知型の試験赤血球の懸濁液を磁性流体溶液と混合することが必要となる不規則凝集素試験に関する場合である。

【0063】

10

20

30

40

50

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 a) で用いられる前記磁性流体溶液は、仏国特許 2 4 6 1 5 2 1 号で公開された出願の実施例 1 ~ 8 または下記例で開示された磁性流体調製法により直接得られるまたは直接得られるような希釈磁性流体溶液である。

【 0 0 6 4 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 b) の前に試料中に含有される赤血球の前記懸濁液はプロテアーゼ酵素の作用に予め付されることが好ましい。

【 0 0 6 5 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 a) で得られた懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液である場合、赤血球の前記懸濁液は工程 a) の最後にプロテアーゼ酵素の作用に付されることも好ましい。

【 0 0 6 6 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた懸濁液と接触下に置かれる前に、工程 b) において抗抗原血液型試験抗体が容器中に乾燥形で含有されることも好ましい。

【 0 0 6 7 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、既知血液型の抗抗原試験抗体または試料中に含有されていることがあり得る抗抗原血液型抗体が、好ましくは I g M 型の凝集性抗体であることも好ましい。

【 0 0 6 8 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 b) の最後における培養工程が、室温で 5 ~ 1 5 分間、好ましくは 1 0 分間にわたり行なわれることも好ましい。

【 0 0 6 9 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、振盪工程 c) が 3 0 秒間 ~ 2 . 5 分間、好ましくは 1 分間 ~ 2 分間にわたり行なわれることも好ましい。

【 0 0 7 0 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 d) において、前記容器への磁場の適用は、磁性流体の粒子が垂直軸に沿い前記容器の底へ引き寄せられるように、容器の外側および下に置かれた磁石により行なわれることも好ましい。

【 0 0 7 1 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 d) において前記磁石が強度 1 0 , 0 0 0 ~ 1 4 , 0 0 0 ガウス、好ましくは 1 2 , 0 0 0 ガウスの永久磁石であることも好ましい。

【 0 0 7 2 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 d) において、磁場が 2 . 5 分間 ~ 1 0 分間、好ましくは 4 分間 ~ 6 分間にわたり前記容器へ適用されることも好ましい。

【 0 0 7 3 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 e) において読取り前における懸濁液の振盪が二回の連続振盪工程で行なわれ、二回目は一回目より短時間で激しくないことも好ましい。

【 0 0 7 4 】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 a) において試料中に含有された赤血球からの赤血球の前記懸濁

10

20

30

40

50

液が個体の全血の試料の沈降または遠心後に、好ましくは沈降により得られる赤血球の沈殿物からのものであることも好ましい。

【0075】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 a) において抗抗原血液型抗体を含有していることがあり得る前記試料が、個体の全血の試料の沈降または遠心後に、好ましくは沈降により得られる血漿または血清の試料であることも好ましい。

【0076】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 b) において前記容器がマイクロプレートウェル、好ましくは丸底ウェルであることも好ましい。

10

【0077】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 c) において振盪が 500 rpm ~ 800 rpm、好ましくは 650 rpm ~ 750 rpm の速度でマイクロプレート振盪機を用いて行なわれることも好ましい。

【0078】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 e) において振盪がマイクロプレート振盪機を用いて二工程で行なわれ、一回目の振盪が 800 rpm ~ 1000 rpm の速度で 1 分間 ~ 2.5 分間、好ましくは 900 rpm の速度で 105 秒間、および二回目の振盪が 350 rpm ~ 550 rpm の速度で 30 秒間 ~ 1 分間、好ましくは 450 rpm の速度で 45 秒間であることも好ましい。

20

【0079】

本発明に従い血液型抗原または抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるこの方法によると、工程 b) において：

工程 a) で得られた赤血球の懸濁液が試料からの赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた赤血球の懸濁液 40 μ L ~ 50 μ L が、ウェルの底に乾燥形で含有された既知血液型の抗抗原試験抗体と前記ウェル中で接触下に置かれる、

工程 a) で得られた赤血球の懸濁液が既知血液型の試験赤血球の懸濁液であれば、工程 a) で得られた赤血球の懸濁液 20 μ L ~ 30 μ L が、抗抗原血液型抗体を含有していることがあり得る試料の血漿または血清 20 μ L ~ 30 μ L と前記ウェル中で接触下に置かれる：

30

ことも好ましい。

【0080】

具体的態様によると、本発明は工程 b) において：

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、抗 A 試験抗体および抗 B 試験抗体含有の別々な容器に入れられ、そして

個体からの血漿または血清の試料が、型 A、好ましくは A1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液含有の別々な容器に入れられることを特徴とし、

40

工程 f) において、前記の各容器中での赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から個体 ABO 型を決定しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の ABO 血液型検査のための本発明による方法を目的として有する。

【0081】

同様に具体的態様によると、本発明は工程 b) において：

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、試料の赤血球上における存在または不在を検査判定する血液型抗原に特異的な試験抗体を含有する別々な容器に接触下に入れられ、ここで各容器が唯一の抗体特異性を有していることを特徴とし、

50

工程 f) において、前記の各容器中で赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から求める血液型の抗原に関する個体の表現型を検査しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の Simonin 試験以外の、血液表現型検査のための本発明による方法を目的として有する。

【 0 0 8 2 】

同様に具体的態様によると、本発明は工程 b) において :

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、抗 A 試験抗体および抗 B 試験抗体を含有する別々な容器に接触下で入れられ、

工程 a) で得られた試料からの赤血球の懸濁液が、試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、抗原 A および B 以外の血液型抗原に特異的な試験抗体を含有する他の別々な容器に接触下で入れられ、ここで各容器が唯一の抗体特異性を含有しており、および

個体からの血漿または血清の試料が、型 A、好ましくは A 1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および型 O の試験赤血球の懸濁液を含有する他の別々な容器に接触下で入れられることを特徴とし、

工程 f) において、前記の各容器中での赤血球凝集物の存在可能性が裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムで読取ることにより評価され、これら読取りの全体から、個体の A B O 型を調べて求める血液型の他の抗原に関する個体の表現型を検査しうることを特徴とする、個体からの全血の試料の、Simonin 試験も含めた、血液表現型検査のための本発明による方法を目的として有する。

【 0 0 8 3 】

他の態様によると、本発明は下記工程からなることを特徴とする、受容者の血漿または血清の試料中における不規則抗体の検査および / または同定のための本発明による方法に関する :

a) 存在しそうな不規則抗体を試験赤血球と特異的に結合させうる条件下で、既知表現型の試験赤血球の懸濁液との、血漿または血清の前記試料の第一容器中における培養、

b) 磁性流体溶液で前記赤血球の均質懸濁液を得るための、工程 a) で得られた混合物への磁性流体溶液の添加、

c) 磁性流体中に含有された磁気粒子により前記容器 (赤血球プレート) の底へ前記の赤血球を引き寄せさせるために、前記容器の外側および下に置かれた磁石による前記容器への磁場の適用、次いで場合により得られる上清の除去、

d) 場合により、洗浄液の添加による赤血球および磁気粒子の沈殿物の洗浄、次いで赤血球のプレティング後に上清の除去、この工程は数回繰り返せる、

e) 工程 c) または d) で得られた赤血球および磁性流体の懸濁液の全体または試料の第二容器中への移し替え、前記第二容器はその下部内壁において、存在しそうな不規則抗体 / 試験赤血球複合体をこの壁で認識してそれと結合しうる抗グロブリンで被覆されている、

f) 磁性流体中に含有された磁気粒子により前記容器の底へ赤血球が引き寄せられるような、前記第二容器への磁場の適用、および

g) 容器の下部壁における赤血球の分布の裸眼および / またはいずれか他の適切な読取システムによる読取り。

【 0 0 8 4 】

この方法によると、容器の垂直軸およびその底に置かれた単一赤点の存在は、不規則抗体の不在として解釈される。

【 0 0 8 5 】

他方、抗免疫グロブリン (または抗種、下記変異体参照) で被覆された容器の面積全体に分布した赤血球の有意な存在は、不規則抗体の存在として解釈される。

【 0 0 8 6 】

本発明は工程 b) において前記試験赤血球の懸濁液への磁性流体溶液の添加が、血清ま

たは血漿の前記試料の添加前に行なわれることを特徴とする、本発明による不規則抗体の検査および/または同定のための方法に関する。

【0087】

本発明は：

工程 e) の前に、先の工程で得られた洗浄赤血球の懸濁液が抗免疫グロブリン溶液と第一容器中で接触下に置かれ、場合により振盪および培養後に、

得られる赤血球および磁性流体の懸濁液の全体または試料が第二容器中へ移し替えられ、前記第二容器がその下部内壁において存在しそうな抗免疫グロブリン/不規則抗体/試験赤血球複合体をこの壁で認識してそれと結合しうる抗グロブリン、好ましくは抗種抗体で被覆されている：

10

ことを特徴とする、本発明による不規則抗体の検査および/または同定のための方法に関する。

【0088】

他の態様によると本発明は本発明による不規則抗体の検査および/または同定のための方法の工程からなるが、工程 a) において：

受容者の血漿または血清の試料が、提供者の赤血球に存在する血液型抗原に対する存在しそうな抗体を前記赤血球と結合させうる条件下で、提供者の赤血球の懸濁液と前記第一容器中で培養される、

以降の工程およびそれらの変法が、本発明による不規則凝集素試験のための方法と同一である：

20

ことを特徴とする、提供者および受容者の赤血球濃縮物間の適合性を調べるための本発明による方法に関する。

【0089】

他の態様によると本発明は：

a) 磁性流体溶液を含有している容器、

b) 試験される試料の赤血球の懸濁液を含有している容器、

c) 場合により乾燥形で抗抗原血液型抗体を含有している一以上の反応容器、および場合により既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している一以上の容器、

d) 前記容器の外側および下に置かれる少なくとも一個の磁石または磁石の会合、

e) 前記容器の振盪システム、および場合により

30

f) 各容器で赤血球凝集物の存在を評価しうる読取機：

からなることを特徴とする、試料の赤血球の表面上における血液型抗原の存在、および場合により試料中における抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるための装置に関する。

【0090】

好ましくは、本発明による装置は前記の反応容器が好ましくは丸底のマイクロプレートウェルであることを特徴とする。

【0091】

具体的態様によると、本発明は：

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している前記容器が、型 A、好ましくは A 1 の試験赤血球の懸濁液、型 B の試験赤血球の懸濁液、および場合により型 O の試験赤血球の懸濁液を別々に含有している、および

40

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が、抗 A 抗体および抗 B 抗体を別々に含有している：

ことを特徴とする、個体からの全血の試料の A B O 血液型検査用の装置を目的として有する。

【0092】

同様に具体的な態様によると、本発明は：

前記の容器が、試料の赤血球上における存在または不在が検査される血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有している：

50

ことを特徴とする、個体からの全血の試料のSimonin試験以外の血液表現型検査用の装置を目的として有する。

【0093】

他の具体的態様によると、本発明は：

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している前記容器が、型A、好ましくはA1の試験赤血球の懸濁液、型Bの試験赤血球の懸濁液、および場合により型Oの試験赤血球の懸濁液を別々に含有している、および

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が、抗A抗体、抗B抗体と、試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、ABO以外の血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有している；

ことを特徴とする、個体からの全血の試料の、Simonin試験も含めた、血液表現型検査用の装置を目的として有する。

【0094】

他の態様によると、本発明は：

a) 抗抗原血液型抗体を別々に含有している一以上の反応容器、

b) 場合により緩衝液または生理的溶液、好ましくは低イオン強度溶液緩衝液で希釈されている、磁性流体溶液、

c) 場合により既知血液型の試験赤血球の懸濁液、および

e) 場合により反応容器の外側および下に置かれる一以上の磁石

からなることを特徴とする、試料の赤血球の表面上における血液型の抗原の存在、および場合により試料中における抗抗原血液型抗体の存在を赤血球凝集反応により調べるための試薬のキットを目的として有する。

【0095】

本発明は特に：

既知型の試験赤血球の懸濁液を含有している前記容器が、型A、好ましくはA1の試験赤血球の懸濁液、型Bの試験赤血球の懸濁液、および場合により型Oの試験赤血球の懸濁液を別々に含有している、および

抗抗原血液型抗体を含有している前記容器が抗A抗体および抗B抗体を別々に含有している；

ことを特徴とする、個体からの全血の試料のABO血液型検査用の本発明による試薬のキットに関する。

【0096】

本発明は表現型検査される試料の赤血球上における存在または不在が検査判定される、抗原AおよびB以外の血液型抗原に特異的な試験抗体を別々に含有した容器をさらに含んでいることを特徴とする、個体からの全血の試料のSimonin試験を含めた血液表現型検査用の本発明による試薬のキットにも関する。

【0097】

好ましくは、本発明による試薬のキットは前記の容器に含有された前記の抗抗原血液型抗体が乾燥形をとることを特徴とする。

【0098】

好ましくはなお、本発明による試薬のキットは前記の容器が好ましくは丸底のマイクロプレートウェルであることを特徴とする。

【実施例】

【0099】

以下の例は本発明を説明するためのものであり、その範囲を決して限定するわけではない。

【0100】

例1：前精製磁性流体の製造物質および方法

磁性流体の製造：

10

20

30

40

50

具体的物質および具体的化学物質

- 一個のStericup G Sフィルター、200 ml、0.22 μm (ref.:107943)
- 一個の磁石
- NH₄OHの28～30%溶液 (Acros.ref.:205840025 バッチno. A 017559001)
- HNO₃の60%溶液 (Normapur, ref.:UN 2031 バッチno. N 182)
- FeCl₂・4H₂O (Sigma, ref.:22,029-9 バッチno. S 18641-463)
- FeCl₃・6H₂O (Sigma, ref.:F -2877 バッチno.033K 0108)

【0101】

磁性流体の製造：

調製：

1) 13.51 gのFeCl₃を秤量し、磁気攪拌により20 mlの濾過脱塩水に溶解させる。前記溶液を50 ml試験管へ移し、すすぎ、濾過脱塩水で50 mlにする(1 Mの溶液)。

2) 19.88 gのFeCl₂を秤量し、磁気攪拌により20 mlの濾過脱塩水に溶解させる。前記溶液を50 ml試験管へ移し、すすぎ、濾過脱塩水で50 mlにする(2 Mの溶液)。

3) 0.22 μmシリンジフィルターで各溶液を濾過する。

4) 30 mlの28%アンモニア(NH₄OH)溶液を250 ml試験管へ入れ、濾過脱塩水で120 mlにする(2 Mの溶液)。

5) 空のRotavapor 1 Lガラスフラスコを秤量する。

培養：

6) 10 mlのFeCl₂溶液(2 M)および40 mlのFeCl₃溶液(1 M)を1 L Rotavaporフラスコに入れ、フラスコを手で振盪することにより溶液を均質化させる。

7) 200 mlの濾過脱塩水を加え、フラスコを手で振盪することにより溶液を均質化させる。

8) フラスコを傾斜状態でRotavapor型装置に入れる。

9) 溶液を十分に均質化させるために最大速度でフラスコを回転させる。

10) 120 mlの2 Mアンモニア溶液を加える。

11) フラスコを15分間回転させる。

12) 105 mlの60%硝酸(HNO₃)を1 Lフラスコに入れ、濾過脱塩水で1 Lにする(1 Mの溶液)。

13) 15分間の回転後、フラスコを磁石上に4分間置く。

14) 上清の全体を吸引する。

15) 沈殿物を再懸濁する。

初回洗浄：

16) フラスコをRotavapor上に置き、それを最大速度で回転させる。

17) 200 mlの1 M HNO₃溶液を加える。

18) フラスコを10分間回転させる。

19) 沈殿物を再懸濁する。

20) 沈殿物が完全に溶解されるまで操作を繰り返す。

21) 鉄懸濁液をデカントするためにフラスコをRotavapor上に置く。

22) 上清を吸引する。

23) 沈殿物を再懸濁する。

工程16～23は必要であれば繰り返すことができる。

最終希釈：

26) フラスコを秤量する。

27) 得られた沈殿物の重量を求め、反応収率を計算する：

$$(\text{得られた沈殿物の重量} / \text{初期鉄の重量}) \times 100$$

$$\text{初期鉄の重量} = 14.77 \text{ g}$$

$$\text{収率} > 55\%$$

10

20

30

40

50

- 28) 200 ml の濾過水をフラスコに加える。
- 29) フラスコをRotavapor上に置く。
- 30) 沈殿物を再懸濁する。
- 31) 溶液を 0.22 μm Stericupフィルターで濾過する。

【0102】

磁性流体原液の調製：

こうして得られた磁性流体をボトル中、L I S S 緩衝液または生理的溶液で所望濃度に希釈する。ボトルに貼られたラベルに、磁性流体濃度、バッチ番号、および製造日を書き込む。磁性流体および/または希釈液体を4で貯蔵する。

【0103】

例2：自動技術（TECAN自動システム）による288試料：144提供者+144受容者の表現型検査

南北方向に交互変換する96単極磁石のプレート（12,000ガウス）、Variomag Teleshake（H+P Lab）およびマイクロプレート読取機を装備したTECAN自動システム

EDTA抗凝血剤中血液試料。

L I S S または生理的緩衝液で0.3%~0.5%（v/v）に希釈された磁性流体の様々なバッチで患者の赤血細胞（RBC）と接触下に即座に置かれる。

カウンター試験：L I S S または生理的緩衝液で0.3%~0.5%（v/v）に希釈された磁性流体の様々なバッチと接触下に即座に置かれ、1% RBC（v/v）中、4

5分間の磁化。

Teleshake上の振盪：

磁化前：700 rpm NWSEで1.5分間。

磁化後：900 rpm NWSEで2分間+450 rpm NWSEで45秒間。

【0104】

結果：

試験の性能は、技術取扱説明書でDUO MICROと呼ばれる選択基準技術と比較して評価した。

288試料に無作為に割り当てられた、前記のように調製されたL I S S または生理的緩衝液で0.34%~0.45%（v/v）に希釈された4バッチの磁性流体の使用。

98%以上で基準技術と一致（六回拒絶）。

予想Kell陽性21 実測Kell陽性20。

沈降ポイントなし。

二技術を比較した表：

【0105】

【表1】

	磁性流体技術				
		+	-	不明確	
Duo-MICRO	+	282	0	0	282
	-	0	0	4 (TN、D)	4
	不明確	0	1 (DPでK)	1 (DPでC)	2
		282	1	5	288

【0106】

観察された拒絶の特定：

不明確Rh1（読取値=33）およびその粒状TN（読取値=3）の試料。

不明確Rh1（読取値=28）の試料。

Cで弱いダブル・ポピュレーション(DP)の、自動システムで検出されない試料(読取値=6)。

粒状Rh1の試料(読取値=15)。

Kellで弱いダブル・ポピュレーションの、自動システムで検出されない試料。

粒状TNの試料(読取値=17)。

【0107】

ダブル・ポピュレーションの管が非常に小さな球状沈殿物を含み、管中TECAN針で試料採取問題を引き起こしたことに、注目すべきである。

【0108】

さらに、ダブル・ポピュレーションは基準技術(遠心によるDuo MICRO)で非常に弱く 10
検出されたにすぎず、裸眼および読取機はそれらを不明確と解釈した。

【0109】

粒状化は裸眼で極めてわずかに見えるだけであり、陰性閾値が上がればそれらはもはや読取機で検出されないであろう。

【0110】

例3: 試料表現型検査: 自動技術(TECAN自動システム上で)

物質:

EDTA(エチレンジアミン四酢酸)管中、提供者および受容者からの試料。

洗浄された純粋磁性流体溶液。

LISSで0.3%~0.5%(v/v)に希釈された磁性流体の様々なバッチで患者の赤血細胞(RBC)と接触下に即座に置かれる。 20

即座に接触下で置かれ、好ましくは1%生理的緩衝液中4で貯蔵されたカウンター試験赤血小体。

プロメライン(Diagast code no.69024)。

Duo Microマイクロプレート、バッチ302000。

LISS(Diagast code V6901B-1)。

Greiner 96 ウェルプレート(Deep Well、700μL)。

【0111】

手順:

室温において患者からの管を2, 500Gで5分間遠心する。 30

試料管を試料棚に置く。

カウンター試験用の磁性流体中で懸濁状態の試験赤血小体(A1およびB)の管を試料棚に置く。

LISS中、450nmでOD0.9相当の磁化磁性流体溶液をポジション1~8、グリッドno.4の溶血管8本中へ分配させる。

ラックno.2をプロメラインで満たす。

Deep Wellプレートをサイトno.1、グリッドno.7、およびDuo Microマイクロプレートをサイトno.2および3、グリッドno.7に置く。

Duo Microの手順をTECANで始める:

25μLの血漿をカウンター試験ウェルに入れる。 40

Deep Wellで、試験される試料毎に240μLの磁化溶液を分配する。

10μLの球状沈殿物を磁化溶液へ加える。

数回吸引および注入することにより球状懸濁液を均質化する。

700μLのプロメラインを加える。

40μLの磁化球状懸濁液およびプロメラインをDuo Microマイクロプレート二枚のウェルに入れる。

25μLの試験赤血小体をカウンター試験ウェルに入れる。

マイクロプレートを10分間培養する。

Teleshake上、700rpmで1.5分間マイクロプレートを振盪する。

マイクロプレートを5分間磁化する。 50

Teleshake上、900rpmで2分間、次いで450rpmで45秒間マイクロプレートを振盪する。

読取機でプレートを読取り、次いで裸眼で読取る。

【0112】

例4：取扱説明書の技術を用いた312試料の表現型検査
手順：

磁性流体の製造：例1参照

312試料で行なわれた取扱説明書の実現可能性：160提供者+152受容者。

EDTA中の血液試料。

0.3%~0.5%の最終磁性流体希釈液を得るためにLISSで希釈された磁性流体原液の様々なバッチで患者のRBCの即座の磁化。

カウンター試験：ガラスボトル中、希釈磁性流体溶液(LISSまたは生理的緩衝液で0.3%に希釈された原液)で懸濁状態に置かれ、1%RBC(LISS中、好ましくは生理的緩衝液中)中、4で貯蔵されたパネルの赤血小体A1およびB。

5分間の磁化。

Teleshake上の振盪：

磁化前：700rpm NWSEで1.5分間、

磁化後：900rpm NWSEで2分間+450rpm NWSEで45秒間。

【0113】

結果：

試験の性能は、技術取扱説明書でDUO MICROと呼ばれる選択基準技術と比較して評価した。

312試料に無作為に割り当てられた4バッチの前記磁性流体の使用。

基準技術との一致=98%。

拒絶=2%(312試料中、7例で拒絶)。

予想Kell陽性35 実測Kell陽性34。

沈降ポイント%=0.4%(3744ウェル中15)。

【0114】

二技術を比較した表：

【表2】

	磁性流体技術				
		+	-	不明確	
Duo-MICRO	+	305	0	0	305
	-	0	0	5 (TN=粒状化)	5
	不明確	0	1 (DPでKell)	1 (DPでC)	2
		305	1	6	312

【0115】

観察された拒絶の特定：

不明確(読取値=33)と解釈され、裸眼および基準技術の読取機でも不明確(読取値=27)と解釈された、Cで低いダブル・ポピュレーション(DP)の試料。

Kellと未検出(FN)でダブル・ポピュレーションの試料。前記試料は管中にほとんど容量がないため、沈殿物の試料採取を非常に難しくさせ、手順のこの工程でヘマトクリットの減少を招くことがあることに留意すべきである。

五試料は、TN(読取値=18、14、12、36、および18)とそれらが陰性であった(読取値は20未満であった)全ての特異性において、粒状化を有していた。これら試料のうち二例は同一プレート上に存在していた。

【0116】

結論：

この試験の最後に際して、表現型検査に磁性流体を用いた技術の性能が、比較に用いられた基準技術の場合と非常に近い、と我々は見なすことができる。

【0117】

“磁性流体”技術がある非常に低いダブル・ポピュレーションを検出せず、一方で基準技術がそれらを不明確として検出したとしても、試料管がわずかに満たされただけで、球状沈殿物の容量が少なく、そのため試料のヘマトクリットが低すぎた、という事実によりこれら二例の偽陰性が説明されることがわかる。

【0118】

一般的に試験される受容者の全母集団において、30%は“磁性流体”技術で常に検出されるダブル・ポピュレーションの試料であった。

10

【0119】

粒状化後に拒絶された試料に関して、これらは裸眼でわずかに目に見えながら、読取機はそれらを拒絶しているが、その理由はそれらが10に設定された陰性閾値を超えるからである。現在、陰性のこの閾値は全読取機で15にまたは20でも設定されている。我々がこれらと同じ値で閾値を設定したとすれば、拒絶率は1%未満であったろう。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

FR2005/001101

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/543 G01N33/80 B01L3/00 G01N35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N B01L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 230 768 A (SYNTEX INC) 5 August 1987 (1987-08-05) cited in the application claims examples 1,2,4 page 4, lines 8,20	1-9, 14-16, 33-35, 45-49
Y		10,40-44
X	EP 0 348 191 A (SYNTEX INC) 27 December 1989 (1989-12-27) column 12, line 61 - column 15, line 40; example 1 column 1, line 1 - column 2, line 11	1,14-16, 33-35, 45-49
Y		10,40-44
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 January 2006		Date of mailing of the international search report 01/02/2006
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Stricker, J-E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No FR2005/001101

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	FR 2 461 521 A1 (ANVAR) 6 February 1981 (1981-02-06) cited in the application abstract page 2, line 9 - page 4, line 14 examples 1-8 claims 1-14 page 5, line 30 - line 40	10
Y	EP 0 351 857 A2 (OLYMPUS OPTICAL CO., LTD) 24 January 1990 (1990-01-24) cited in the application claims 12-17; figures examples	40-44
Y	EP 0 528 708 A1 (PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS) 24 February 1993 (1993-02-24) cited in the application claims 11-15; figures; examples	40-44
Y	WO 02/40159 A (PROLIX INCORPORATED; CORTEX BIOCHEM, INC; SPICER, DOUGLAS, A; POURFAR) 23 May 2002 (2002-05-23) the whole document	41
A	WO 02/46758 A1 (DIAGAST; BUFFIERE, FREDERIC; BETREMIEUX, CHRISTINE; GAILLARD, LAETITIA) 13 June 2002 (2002-06-13) abstract page 7, line 1 - page 10, line 15 claims 1-10	
A	WO 02/46773 A1 (DIAGAST; BUFFIERE, FREDERIC; BETREMIEUX, CHRISTINE; CHEVALEYRE, JEAN,) 13 June 2002 (2002-06-13) abstract	
A	WO 98/02752 A1 (STICHTING CENTRAAL LABORATORIUM VAN DE BLOEDTRANSF; DEN BOER, PIETER,) 22 January 1998 (1998-01-22) cited in the application abstract	
A	EP 0 755 719 A2 (ORTHO DIAGNOSTIC SYSTEMS INC) 29 January 1997 (1997-01-29) cited in the application abstract	
A	EP 0 194 212 A1 (LAPIERRE, YVES; FONDATION RECH DIAGNOST LAB; FONDATION POUR LA RECHERC) 10 September 1986 (1986-09-10) cited in the application abstract	

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

/FR2005/001101

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0230768	A	05-08-1987	AU 601386 B2	13-09-1990
			AU 6676386 A	25-06-1987
			CA 1304006 C	23-06-1992
			DE 3684448 D1	23-04-1992
			ES 2030667 T3	16-11-1992
			JP 2806924 B2	30-09-1998
			JP 62190466 A	20-08-1987
EP 0348191	A	27-12-1989	CA 1324499 C	23-11-1993
			DE 68913234 D1	31-03-1994
			DE 68913234 T2	08-09-1994
			JP 2044254 A	14-02-1990
			JP 2766677 B2	18-06-1998
FR 2461521	A1	06-02-1981	DE 3027012 A1	05-02-1981
			JP 1669794 C	12-06-1992
			JP 3035973 B	30-05-1991
			JP 56095331 A	01-08-1981
			US 4329241 A	11-05-1982
EP 0351857	A2	24-01-1990	DE 68919565 D1	12-01-1995
			DE 68919565 T2	29-06-1995
EP 0528708	A1	24-02-1993	AT 137024 T	15-05-1996
			AU 648680 B2	28-04-1994
			AU 2045692 A	28-01-1993
			CA 2074278 A1	23-01-1993
			DE 69209935 D1	23-05-1996
			DE 69209935 T2	02-10-1996
			DK 528708 T3	12-08-1996
			ES 2086688 T3	01-07-1996
			FI 923327 A	23-01-1993
			FR 2679660 A1	29-01-1993
			GR 3019891 T3	31-08-1996
			JP 2510932 B2	26-06-1996
			JP 5203651 A	10-08-1993
			US 5318914 A	07-06-1994
WO 0240159	A	23-05-2002	AU 2692902 A	27-05-2002
			EP 1409134 A2	21-04-2004
WO 0246758	A1	13-06-2002	AU 1721602 A	18-06-2002
			EP 1342088 A1	10-09-2003
			FR 2817967 A1	14-06-2002
			US 2004063163 A1	01-04-2004
WO 0246773	A1	13-06-2002	AU 1721702 A	18-06-2002
			EP 1342090 A1	10-09-2003
			FR 2817969 A1	14-06-2002
			US 2004063218 A1	01-04-2004
WO 9802752	A1	22-01-1998	AU 3362097 A	09-02-1998
			EP 1021727 A1	26-07-2000
			NL 1003570 C2	15-01-1998
			US 6303390 B1	16-10-2001
EP 0755719	A2	29-01-1997	NONE	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

JP/FR2005/001101

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 0194212	A1	10-09-1986	DE 3671534 D1	28-06-1990
			FR 2577321 A1	14-08-1986

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

/FR2005/001101

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE G01N33/543 G01N33/80 B01L3/00 G01N35/00		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N B01L		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 230 768 A (SYNTEX INC) 5 août 1987 (1987-08-05) cité dans la demande revendications exemples 1,2,4 page 4, ligne 8,20	1-9, 14-16, 33-35, 45-49
Y	-----	10,40-44
X	EP 0 348 191 A (SYNTEX INC) 27 décembre 1989 (1989-12-27) colonne 12, ligne 61 - colonne 15, ligne 40; exemple 1 colonne 1, ligne 1 - colonne 2, ligne 11	1, 14-16, 33-35, 45-49
Y	-----	10,40-44
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
*A' document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	*T' document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention	
*E' document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date	*X' document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément	
*L' document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)	*Y' document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier	
*O' document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens	*&' document qui fait partie de la même famille de brevets	
*P' document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
20 janvier 2006	01/02/2006	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Stricker, J-E	

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (Janvier 2004)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No /FR2005/001101

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	FR 2 461 521 A1 (ANVAR) 6 février 1981 (1981-02-06) cité dans la demande abrégé page 2, ligne 9 - page 4, ligne 14 exemples 1-8 revendications 1-14 page 5, ligne 30 - ligne 40	10
Y	EP 0 351 857 A2 (OLYMPUS OPTICAL CO., LTD) 24 janvier 1990 (1990-01-24) cité dans la demande revendications 12-17; figures exemples	40-44
Y	EP 0 528 708 A1 (PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS) 24 février 1993 (1993-02-24) cité dans la demande revendications 11-15; figures; exemples	40-44
Y	WO 02/40159 A (PROLIX INCORPORATED; CORTEX BIOCHEM, INC; SPICER, DOUGLAS, A; POURFAR) 23 mai 2002 (2002-05-23) le document en entier	41
A	WO 02/46758 A1 (DIAGAST; BUFFIERE, FREDERIC; BETREMIEUX, CHRISTINE; GAILLARD, LAETITIA) 13 juin 2002 (2002-06-13) abrégé page 7, ligne 1 - page 10, ligne 15 revendications 1-10	
A	WO 02/46773 A1 (DIAGAST; BUFFIERE, FREDERIC; BETREMIEUX, CHRISTINE; CHEVALEYRE, JEAN,) 13 juin 2002 (2002-06-13) abrégé	
A	WO 98/02752 A1 (STICHTING CENTRAAL LABORATORIUM VAN DE BLOEDTRANSF; DEN BOER, PIETER,) 22 janvier 1998 (1998-01-22) cité dans la demande abrégé	
A	EP 0 755 719 A2 (ORTHO DIAGNOSTIC SYSTEMS INC) 29 janvier 1997 (1997-01-29) cité dans la demande abrégé	
A	EP 0 194 212 A1 (LAPIERRE, YVES; FONDATION RECH DIAGNOST LAB; FONDATION POUR LA RECHERC) 10 septembre 1986 (1986-09-10) cité dans la demande abrégé	

5

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs : membres de familles de brevets

Demande internationale No

/FR2005/001101

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0230768	A	05-08-1987	AU 601386 B2	13-09-1990
			AU 6676386 A	25-06-1987
			CA 1304006 C	23-06-1992
			DE 3684448 D1	23-04-1992
			ES 2030667 T3	16-11-1992
			JP 2806924 B2	30-09-1998
			JP 62190466 A	20-08-1987
EP 0348191	A	27-12-1989	CA 1324499 C	23-11-1993
			DE 68913234 D1	31-03-1994
			DE 68913234 T2	08-09-1994
			JP 2044254 A	14-02-1990
			JP 2766677 B2	18-06-1998
FR 2461521	A1	06-02-1981	DE 3027012 A1	05-02-1981
			JP 1669794 C	12-06-1992
			JP 3035973 B	30-05-1991
			JP 56095331 A	01-08-1981
			US 4329241 A	11-05-1982
EP 0351857	A2	24-01-1990	DE 68919565 D1	12-01-1995
			DE 68919565 T2	29-06-1995
EP 0528708	A1	24-02-1993	AT 137024 T	15-05-1996
			AU 648680 B2	28-04-1994
			AU 2045692 A	28-01-1993
			CA 2074278 A1	23-01-1993
			DE 69209935 D1	23-05-1996
			DE 69209935 T2	02-10-1996
			DK 528708 T3	12-08-1996
			ES 2086688 T3	01-07-1996
			FI 923327 A	23-01-1993
			FR 2679660 A1	29-01-1993
			GR 3019891 T3	31-08-1996
			JP 2510932 B2	26-06-1996
			JP 5203651 A	10-08-1993
			US 5318914 A	07-06-1994
			WO 0240159	A
EP 1409134 A2	21-04-2004			
WO 0246758	A1	13-06-2002	AU 1721602 A	18-06-2002
			EP 1342088 A1	10-09-2003
			FR 2817967 A1	14-06-2002
			US 2004063163 A1	01-04-2004
WO 0246773	A1	13-06-2002	AU 1721702 A	18-06-2002
			EP 1342090 A1	10-09-2003
			FR 2817969 A1	14-06-2002
			US 2004063218 A1	01-04-2004
WO 9802752	A1	22-01-1998	AU 3362097 A	09-02-1998
			EP 1021727 A1	26-07-2000
			NL 1003570 C2	15-01-1998
			US 6303390 B1	16-10-2001
EP 0755719	A2	29-01-1997	AUCUN	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

...FR2005/001101

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication	
EP 0194212	A1	10-09-1986	DE 3671534 D1	28-06-1990
			FR 2577321 A1	14-08-1986

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 オリビエ、ブーレ

フランス国セイリ、ラブウルス、リュ、マジンガルブ、11

(72) 発明者 アルノー、ブーレ

フランス国アラス、アレ、デ、ベルディエ、3

(72) 発明者 アレクシー、デラノー

フランス国ラ、マドレーヌ、アブニユ、フベール、56

(72) 発明者 ローレンス、フォコニエ

フランス国ビルヌーブ、ダスク、リュ、ド、ラ、コンコルド、18

(72) 発明者 ジャン マルク、ペロサン

フランス国ランパーサル、アブニユ、ポティエ、46

(72) 発明者 ローラン、スフレ

フランス国サン、アマン、レ、オ、リュ、デュ、コレジュ、41

Fターム(参考) 4B029 AA07 BB11 CC01 FA15

专利名称(译)	使用铁磁流体检查血液表型和相关用途		
公开(公告)号	JP2007536545A	公开(公告)日	2007-12-13
申请号	JP2007512258	申请日	2005-05-03
[标]申请(专利权)人(译)	鹿阵风 迪卡斯特公司		
申请(专利权)人(译)	鹿阵风		
[标]发明人	イブバーブロー オリビエブーレ アルノーブーレ アレクシーデラノー ローレンスフォコニエ ジャンマルクペロサン ローランスフレ		
发明人	イブ、バーブロー オリビエ、ブーレ アルノー、ブーレ アレクシー、デラノー ローレンス、フォコニエ ジャン-マルク、ペロサン ローラン、スフレ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C12M1/34 G01N33/80		
CPC分类号	G01N33/54326 G01N33/54346 G01N33/80		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/543.583 G01N33/543.585 C12M1/34.F C12M1/34.A		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB11 4B029/CC01 4B029/FA15		
代理人(译)	耀希达凯贤治 中村KoTakashi		
优先权	2004004853 2004-05-05 FR		
其他公开文献	JP4995079B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及使用从Fe (III) 和至少一种氧化态为II的金属M (II) 的多氧阴离子的混合物获得的铁磁流体的水溶液来测试血液表型的方法，和/或进行凝集素试验，和/或检查捐献者和接受者的适合性。本发明还涉及用于执行上述操作的套件。

		磁性流体技術			
		+	-	不明確	
Duo-MICRO	+	282	0	0	282
	-	0	0	4 (TN, D)	4
	不明確	0	1 (DPでK)	1 (DPでC)	2
		282	1	5	288