使用の前に本電子化された添付文書をよく読んでください。

**2024年５月改訂（第５版）
*2017年６月改訂（第４版）
認証番号：第226AFAMX00130000号

体外診断用医薬品

プロテイナーゼ３-抗好中球細胞質自己抗体キット

フルオロ ANCA テスト

［全般的な注意事項］

１．本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
２．本品は、血清中の抗好中球細胞質抗体を検出する試薬であり、被験者の診断は他の関連する検査結果や臨床症状に基づいて総合的に判断してください。
３．添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
４．本品の構成品のうち対照陰性血清及び各対照陽性血清は、体外診断用医薬品を用いてHBs抗原、HCV抗体及びHIV抗体が陰性であることを確認していますが、これらのウイルス及び他のウイルスを完全に否定できる試験方法ではないことから、検体同様、感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。
５．本品の構成品のうち、FITC標識抗ヒトIgG(Et)、FITC標識抗ヒトIgG(Fo)、洗浄液(10倍濃縮)、検体希釈液及び各対照血清には保存剤としてアジ化ナトリウム(0.1%未満)を添加してあります。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当を受けてください。

［形状・構造等(キットの構成)］

構成品名
エタノール固定スライド
ヒト好中球細胞
ホルマリン固定スライド
ヒト好中球細胞
FITC標識抗ヒトIgG(Et)
FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体(ウサギ)
FITC標識抗ヒトIgG（Fo）
FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体(ウサギ)
C-ANCA対照陽性血清
P-ANCA対照陽性血清
ANA対照陽性血清
対照陰性血清
洗浄液(10倍濃縮)
検体希釈液
封入剤
(付属品)カバースリップ
(付属品)吸収紙

［使用目的］

血清中の抗好中球細胞質抗体(ANCA)の検出

［測定原理］

本品は、間接蛍光抗体法(IF法)を原理とした試薬です。スライドグラス上に固定したヒト好中球を基質として、これに検体を反応させ、さらに蛍光色素(FITC)を標識した抗ヒトIgGポリクローナル抗体(ウサギ)を反応させます。蛍光顕微鏡にて、蛍光の有無を観察することによりヒト血清中の抗好中球細胞質抗体を検出します。

［操作上の注意］

１．検体について
（１）検体は血清を用います。検体は新鮮なものを用いてください。
（２）非働化した検体は使用しないでください。
（３）検体の保存方法
　１）採血後はなるべく早く測定を行ってください。
　２）検査後血清を保存する場合：－20℃以下にて凍結してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
（４）不溶物を含む検体は遠心分離又は濾過により除去した後使用してください。
２．共存物質の影響
共存物質の影響を試験したところ、ビリルビン(0.4 mg)、ヘモグロビン(5 mg)、トリグリセライド(20 mg)までの添加において定量値に影響は見られませんでした。
しかし、上記の添加濃度以上では定量値に与える影響が確認されていないため、極端な乳び、溶血が認められる検体は使用しないでください。

［用法・用量(操作方法)］

１．準備するもの
（１）ビーカー
（２）洗浄ビン
（３）マグネット
（４）スターラー
（５）湿潤箱
（６）染色カゴ
２．試薬の調製
（１）すべての試薬は室温(20～25℃)に戻してから使用します。

（2）洗浄液(10倍濃縮)を精製水で10倍希釈し、洗浄液とします。
洗浄液は調製後速やかに使用してください。
（3）その他試薬は調製済みです。そのままご使用ください。

3．検体の希釈
（1）定性試験
検体を検体希釈液で20倍に希釈します。
（2）半定量試験
定性試験で陽性と判定された検体については、必要に応じて更に2^n希釈し、半定量試験を行います。

4．検体の滴加
エタノール固定スライドあるいはホルマリン固定スライド(以下、固定スライド)を室温(20～25℃)に戻した後開封し、希釈した検体、各対照陽性血清及び対照陰性血清を固定スライドの各ウエルに各々25μLずつ滴加します。
注意）検体の滴加は高希釈より低希釈の順で滴加してください。また滴加した検体が隣のものと混ざり合わない様､注意してください。

5．一次反応
湿潤箱中で室温(20～25℃)にて、30分間反応させます。

6．洗浄
（1）ビーカーにあらかじめ洗浄液と染色カゴを入れておきます。
（2）一次反応後、湿潤箱より固定スライドを1枚ずつ取り出し、洗浄液の入った洗浄ビンで血清を良く洗い流してから染色カゴに立てます。
（3）全ての固定スライドを立て終わった後、スターラーで10分間洗浄します。

7．標識抗体の滴加
（1）洗浄が終わった固定スライドを洗浄液から1枚ずつ取り出し、ウエル以外の水分を添付の吸収紙を重ねてすばやく取り除きます。
（2）固定スライドを湿潤箱に並べ、FITC標識抗ヒトIgG(Et)あるいはFITC標識抗ヒトIgG(Fo)を固定スライドの各ウエルに25μL滴加します。
注意）固定スライドの乾燥は判定に著しい支障をきたしますので、固定スライドは必ず１枚ずつ洗浄液より取り出し、直ちに標識抗体を滴加してください。

8．二次反応
再び湿潤箱中で室温(20～25℃)にて、30分間反応させます。

9．洗浄
6.と同様に行います。

10. 封入
洗浄が終わった固定スライドを染色カゴから取り出し、吸収紙で余分な水分を軽く吸い取り、添付の封入剤で封入します。

11. 検鏡
蛍光顕微鏡(400倍)で観察し、判定します。

［測定結果の判定法］

1．陰性・陽性の判定
陰性(－)：細胞の蛍光強度が対照陰性血清と同じ程度以下である場合を陰性とします。
陽性(＋)：細胞の蛍光強度が対照陰性血清よりも明るく、染色型が識別できる場合を陽性と判定します。なお、抗体価を求める場合は、検体を20倍より希釈して試験を行い、その終価で確認します。

2．判定基準
検体希釈倍数20倍以上で陽性と判定できる場合を陽性とします。

3．染色型の判定
ANCA陽性と判定した場合、検体の染色型を判定します。染色型は、主にC-ANCA又はP-ANCAに分類されます。
（1）C-ANCA
エタノール固定スライドで、好中球の細胞質に顆粒状の特異蛍光が認められます。
（2）P-ANCA
エタノール固定スライドでは好中球の核もしくは核周辺の部位に特異蛍光を認め、ホルマリン固定スライドでは細胞質に顆粒状の特異蛍光が認められます。

エタノール固定スライド及びホルマリン固定スライドの染色像

	染色像（好中球の特異蛍光部位）	
	エタノール固定スライド	ホルマリン固定スライド
C-ANCA 陽性	細胞質	細胞質
P-ANCA 陽性	核/核周辺	細胞質
陰性(ANAが存在)	核/核周辺	※1) 核/核周辺 あるいは（－）
陰性	（－）	（－）

※1) 検体中に抗核抗体(ANA)が存在する場合、エタノール固定スライドでは好中球の核及び核周辺に蛍光が認められ、ANAとP-ANCAの判定が困難な場合がありますが、ホルマリン固定スライドではANAの特異蛍光が見られず陰性化するかもしくは蛍光が著しく減少します。

［臨床的意義］

抗好中球細胞質抗体(Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody:ANCA)は、エタノール固定好中球細胞スライドを基質として用いたIF法により好中球の細胞質と反応する自己抗体として、1982 年にDaviesらにより巣状壊死

性腎炎の患者血清中に見出されました。 ANCAはIF法における染色像により、好中球細胞質が顆粒状に染色されるC-ANCAと核周辺部が染色されるP-ANCAの２種に分類されます。 C-ANCAは多発血管炎性肉芽腫症に密接に関連しており、対応抗原は、主にプロテイナーゼ３であるとされています。また、P-ANCAは半月体形成性腎炎や顕微鏡的多発動脈炎で高頻度に出現します。P-ANCAの対応抗原は、主に、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)ですが、エラスターゼやラクトフェリンも抗原として、報告されています。

フルオロANCAテストは、ヒト好中球細胞をエタノール及びホルマリンで固定した基質スライドを用いて、IF法により、抗好中球細胞質抗体を検出する試薬です。

［性能］

１．性能

（１）感度

管理血清２例(C-ANCA陽性管理血清１例及びP-ANCA陽性管理血清１例)を 20倍 希釈し、所定の操作方法に従って操作し試験するとき、染色を認める。

（２）正確性

管理血清４例（C-ANCA陽性管理血清1例、P-ANCA陽性管理血清１例、ANA陽性管理血清及び陰性管理血清１例）について、所定の操作方法に従って操作し試験するとき、C-ANCA陽性管理血清はC-ANCA陽性に、P-ANCA陽性管理血清はP-ANCA陽性に、ANA陽性管理血清及び陰性管理血清は、C-ANCA、P-ANCAのいずれも陰性の判定となる。

（３）同時再現性

管理血清４例(C-ANCA陽性管理血清１例、P-ANCA陽性管理血清１例、ANA陽性管理血清１例及び陰性管理血清１例)について、所定の操作方法に従って操作し３回試験するとき、いずれも同一の判定となる。

（４）最小検出感度

希釈倍数による最小検出感度は20倍です。高値検体については必要なだけ希釈倍数を上げることで、蛍光を観察する最大希釈倍数を定量することができます。

２．相関性試験結果

本品と既認証品(IF法)との相関性について、自己免疫疾患の患者血清50例を対象に陽陰性一致率を検討したところ、以下の結果となりました。

		既認証品		合　計
		陽　性	陰　性	
本品	陽　性	29	4	33
	陰　性	0	17	17
合　　計		29	21	50

陽陰性の判定一致率　92%（46例/50例）

［使用上又は取扱い上の注意事項］

１．取扱い上の注意

（１）検体はHIV、HBV、HCVなど感染の恐れがあるものとして扱ってください。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し、また、口によるピペッティングを行わないでください。

（２）試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。

２．使用上の注意

（１）使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

（２）検査にあたっては、操作方法に従い、正しく使用してください。

（３）キット構成品は２～８℃に保存してください。

（４）固定スライドは湿気を避けるため十分に室温(20～25℃)に戻してから開封し、開封後は直ちに使用してください。

（５）検体採取に際しては、検体相互の汚染による判定誤差を防ぐため各検体ごとにチップを交換してください。

（６）固定スライドのウエルに、指やチップなどで触れたり、濾紙または吸収紙などでウエルの水分を直接吸い取ったりしないでください。

（７）反応中の固定スライドの乾燥は判定に著しい支障をきたしますので絶対に避けてください。特に以下の点に注意してください。

１）反応は必ず湿潤箱中で行い、反応中に固定スライドが乾かぬよう湿潤箱には十分水を入れてください。

２）洗浄後の固定スライドは必ず１枚ずつ洗浄液から取り出し、ただちに標識抗体を滴加してください。全部の固定スライドを１度に取り出すことは固定スライドを乾燥させる恐れがあるので避けてください。

（８）封入から検鏡までは速やかに行ってください。直ちに検鏡できない場合は冷暗所に保存し、24時間以内に行ってください。

（９）検体によっては、バックグランドに非特異反応による蛍光が認められる場合があります。

(10) 保存及び使用中は、試薬に直射日光を当てないでください。

３．廃棄上の注意

（１）検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。検査に使用した器具は、廃棄又は次のいずれかの方法で処理してください。

１）最終濃度２％グルタルアルデヒド溶液に１時間以上浸漬する。

２）0.1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素 約 1,000 ppm)に１時間以上浸漬する。

３）121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。

また、試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の

規定に従って処理してください。

（2）血清等が飛散した場合には、手袋着用の上、ペーパータオル等でふき取り、0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液にて清拭してください。また、使用した手袋、拭き取りに使用したペーパータオル等は廃棄上の注意（1）に従って処理・廃棄してください。

（3）本品の構成品のうち、FITC標識抗ヒトIgG(Et)、FITC標識抗ヒトIgG(Fo)、洗浄液(10倍濃縮)、検体希釈液及び各対照血清には保存剤としてアジ化ナトリウム(0.1%未満)を添加してあります。アジ化ナトリウムは配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含んだ廃液は十分量の水で洗い流してください。

[貯蔵方法・有効期間]

貯蔵方法：２～８℃

有効期間：18箇月

（使用期限は外箱に表示されています。）

[包装単位]

1キット60穴 フルオロANCAテスト(CODE 4740)

構成品	包装	数量
エタノール固定スライド ヒト好中球細胞	6穴×1枚	10袋
FITC標識抗ヒトIgG(Et)	2.0 mL	1本
FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体(ウサギ)		
C-ANCA対照陽性血清	0.5 mL	1本
P-ANCA対照陽性血清	0.5 mL	1本
対照陰性血清	0.5 mL	1本
洗浄液(10倍濃縮)	100 mL	1本
検体希釈液	*70 mL	1本
封入剤	8.0 mL	1本
(付属品)カバースリップ		10枚
(付属品)吸収紙		20枚

1キット60穴 フルオロANCAテスト確認用(CODE 4745)

構成品	包装	数量
ホルマリン固定スライド ヒト好中球細胞	6穴×1枚	10袋
FITC標識抗ヒトIgG(Fo)	2.0 mL	1本
FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体(ウサギ)		
P-ANCA対照陽性血清	0.5 mL	1本
ANA対照陽性血清	0.5 mL	1本
対照陰性血清	0.5 mL	1本
洗浄液(10倍濃縮)	100 mL	1本
検体希釈液	*70 mL	1本
封入剤	8.0 mL	1本
(付属品)カバースリップ		10枚
(付属品)吸収紙		20枚

[主要文献]

1．Van der Woude,F.J.et al.,Lancet 23,425-429(1985)

2．Goeken J.A.,J.Clin.Immunol.11,161-174(1991)

3．Davies D.J.et al.,Br.Med.J.285,606(1982)

4．Falk R.J.et al.,New Eng.J.Med.,318,1651-1657(1988)

5．Charles L.A.et al., Clin.Immunol.Immunopathol. 53, 243-253(1989)

**[問い合わせ先]

株式会社医学生物学研究所 学術部

〒105－0012 東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL：03－6854－3613 E-mail：kensa@mbl.co.jp

**[製造販売元]

株式会社医学生物学研究所

〒105－0012 東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL：03－6684－6860 FAX：03－6854－3615