

体外診断用医薬品

抗核抗体キット
フルオロHEp-2 ANA テスト

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的で使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果とあわせて総合的に判断してください。
3. 添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外の使用については、測定値の信頼性を保証致しません。
4. 本品の構成試薬のうち、ヒト血液由来のものはHBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体陰性の原料から調製されていますが、検体と同様に感染の可能性があるものとして取り扱ってください。
5. 対照陽性血清、対照陰性血清、FITC標識抗体、洗浄用緩衝液及び検体希釈液には保存剤として0.09%のアジ化ナトリウムが添加されています。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などの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

[形状・構造等(キットの構成)]

	構成試薬	分量	数量
1	HEp-2 ANA スライド (ANTINUCLEAR ANTIBODY) HEp-2培養細胞	12穴× 1枚	10袋
2	FITC標識抗体 (IgG (H only) CONJUGATE) FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル 抗体（ヤギ）	6 mL	1 本
3	検体希釈液 (SAMPLE DILUENT)	100 mL	1 本
4	洗浄用緩衝液（10×） (WASH BUFFER)	100 mL	1 本
5	対照陽性血清 (ANA Positive Human Serum)	0.5 mL	1 本
6	対照陰性血清 (ANA Negative Human Serum)	0.5 mL	1 本

7	封入剤 (MOUNTING MEDIUM)	8 mL	1 本
	4 mL 容器		2 本
	20 mL 容器		1 本

[使用目的]

血清中の抗核抗体の検出

[測定原理]

本品は間接蛍光抗体法を原理とした血清中の抗核抗体を検出する試薬です。スライドグラス上に固定されたHEp-2培養細胞を基質として、これに検体を反応させると、基質と検体中の抗核抗体の複合体が形成されます。さらにFITC標識抗体（FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体（ヤギ））を加えると、基質－抗核抗体－FITC標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体（ヤギ）の複合体が形成されます。蛍光顕微鏡で、蛍光の有無を観察することによって陽陰性の判定を行います。

[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、常法に従って採血し凝固させ、血清分離してください。検体はできる限り新鮮なものを使用してください。
- (2) 希釈後の検体は即日測定してください。
- (3) 検体の保存性

- 1) 採血後はなるべく早く測定してください。
- 2) 血清を保存する場合：-20℃以下で凍結してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。

2. 共存物質の影響

自社施設にて、検体における共存物質の影響を試験をしたところ、ヘモグロビン：490 mg、ビリルビンF：18.5 mg、ビリルビンC：21.0 mg、乳び：1450度数、RF：500 IU/mLまでの添加において判定結果に影響はありませんでした。

極端な乳びや溶血が認められる検体は非特異反応が生じる可能性があるので使用しないでください。

[用法・用量(操作方法)]

使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

1. 用手法の場合

(1) 準備

1) 使用器具：ビーカー（例：500 mL）、洗浄ビン、マグネット、スターラー、湿潤箱、染色カゴ

2) 試薬調製：洗浄用緩衝液を10倍希釈し、洗浄液とします。

その他の試薬はそのまま使用してください。

(2) 検体の希釈

検体を検体希釈液で40倍又は80倍に希釈します。

検体の希釈倍数は各施設で設定したカットオフ値を参考にしてください。

(3) 検体の滴加

HEp-2 ANAスライド（以下、基質スライド）を室温（20～30℃）に戻した後開封し、検体、対照陰性血清及び対照陽性血清をスライドのウエル（細胞固定面）にそれぞれ15～50 µLずつ滴加します。

注意）基質スライドは、室温（20～30℃）に戻してから開封してください。

(4) 一次反応

湿潤箱中で20～30℃、30分間反応させます。

注意）滴加した検体が隣のウエルの検体と混ざり合わないようにしてください。

(5) 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) 湿潤箱から基質スライドを1枚ずつ取り出し、洗浄ビンに入れた洗浄液で血清を洗い流してから染色カゴに立てます。

3) 全ての基質スライドを立て終わったら、洗浄します。

(6) 標識抗体の滴加

1) 基質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取り除きます。

2) 基質スライドを湿潤箱に戻し、FITC標識抗体を基質スライドの各ウエルに1滴ずつ滴加します。

注意）基質スライドを乾燥させないようにしてください。乾燥は判定に著しい支障をきたしますの

で、基質スライドは必ず1枚ずつ洗浄液から取り出し、直ちにFITC標識抗体を滴加してください。

(7) 二次反応

再び湿潤箱中で20～30℃、30分間反応させます。

(8) 洗浄

(5)と同様に行います。

(9) 封入

基質スライドを洗浄液から1枚ずつ取り出し、余分な水分を取り除き、封入剤で封入します。

注意）基質スライドを乾燥させないようにしてください。

(10) 鏡検

蛍光顕微鏡（200倍）で観察し、判定します。

2. 全自動蛍光抗体法分析装置HELIOS（以下、HELIOS）を使用する場合

HELIOSの添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

(1) 検体及び試薬のセット

検体及び構成試薬をHELIOSの所定の場所に設置します。

注意）基質スライドのフロスト部分には、二次元バーコードが印刷されていますので、傷つけたり、汚したりしないでください。

(2) 染色操作

HELIOSにパラメータを入力します。

HELIOSによって、下記の工程は、自動で行われます。

検体希釈 ⇒ 検体の滴加 ⇒ 一次反応
⇒ 洗浄 ⇒ 標識抗体の滴加 ⇒ 二次反応
⇒ 洗浄 ⇒ 封入

(3) 染色像の取り込み

自動的に染色像が取り込まれます。

(4) 判定

取り込まれた画像を参考に、判定します。

[測定結果の判定法]

1. 陰性(－)・陽性(＋)の判定

陰性(－)：細胞核に特異蛍光が認められないもの。

陽性(＋)：明らかに核全体あるいは核局所に特異蛍光が観察されるもの。

抗核抗体陽性と判定した時、さらに2. に準じてパ

ターンを判定します。

2. 染色型の判定

陽性の場合、検体の染色型を判定します。

染色型は主に(1)～(5)に分類されます。また、複数の染色型が混在する場合があります。

(1) 辺縁型 (Peripheral)

間期核が均質に染色され、核周辺部がより強く染色されます。分裂期クロモソームも均質に染色され、ときに周辺部がより強く染色されます。

(2) 均質型 (Homogeneous)

間期核に均質な染色を示します。分裂期クロモソームも均質に染色されます。

(3) 斑紋型 (Speckled)

間期核は全体に顆粒状のざらついた染色を示します。

核小体は染色されないことが多く、分裂期クロモソームは染色されません。

(4) 核小体型 (Nucleolar)

間期核の核小体が染色されます。核小体の染色は均質な場合や顆粒状に染色される場合があります。

分裂期クロモソームの染色は一定ではありません。

(5) 散在斑紋型 / セントロメア型 (Discrete-speckled / Centromere)

抗セントロメア抗体による染色型です。間期核は40～80個の微細な顆粒状に染色され、分裂期クロモソームにも整列した顆粒状の染色を認めます。

3. 参考基準範囲

80倍未満

各施設における参考基準範囲は、目的に応じて施設ごとに設定することを推奨します。

[臨床的意義]

抗核抗体は細胞核の成分に対する自己抗体の総称で、SLEなどの膠原病に高率に出現します。抗核抗体検査は、膠原病の診断をはじめとして、病型の分類、治療法の決定など臨床診断上極めて有用です。本品は、基質としてヒト喉頭癌由来の培養細胞であるHEp-2細胞を使用していますので、核が大きく、染色パターンを詳細に観察することができます。また、様々な細胞周期の細胞が混在しているため、抗セントロメア抗体、増殖細胞核抗原(PCNA)に対する抗体の検出も可能です。

[性能]

1. 感度試験

(1) 抗核抗体陰性血清8例を検体として測定するとき、定性試験ですべて陰性となります。

(2) 抗核抗体陽性血清8例を検体として測定するとき、定性試験ですべて陽性となります。

2. 正確性試験

(1) 既知濃度の管理血清を測定するとき、希釈倍数による定量値が基準値 ± 1 管の範囲内となります。

(2) 既知の染色型別の管理血清5例を検体として測定するとき、所定の染色型：均質型 (Homogeneous)、辺縁型 (Peripheral)、斑紋型 (Speckled)、核小体型 (Nucleolar)、散在斑紋型 / セントロメア型 (Discrete-speckled / Centromere) となります。

3. 同時再現性試験

同一の抗核抗体陽性検体を3回測定するとき、希釈倍数による定量値が2管の範囲内となります。

4. 相関性試験成績

膠原病患者検体を含む検体100例を用いて、本品と既承認品の測定結果を比較し、以下の結果を得ました。

		既承認品		合 計
		陽 性	陰 性	
本 品	陽 性	45	1	46
	陰 性	2	52	54
合 計		47	53	100

判定一致率 97%

5. 校正用基準物質

自社調製品

[使用上又は取扱いの注意]

1. 取扱い上の注意

(1) 検体はHIV、HBV、HCV等感染の可能性があるものとして扱ってください。検査にあたって、感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用してください。

(2) 試薬が目や口に入った場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、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) すべての構成試薬は室温(20～30℃)に戻してから

ら使用してください。

- (3) 検体、試薬への微生物などの混入や試薬間のコンタミネーションを避けてください
- (4) 反応温度、反応時間、検体の希釈率を厳守してください。
- (5) 基質スライドのウエルに、指やチップなどで触れたり、ろ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。
- (6) 滴加した検体が隣のウエルの検体と混ざり合わないよう、一次反応、洗浄の際に注意してください。
- (7) 反応中の基質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。
- (8) 反応中は必ず湿潤箱で行い、反応中に基質スライドが乾かないように湿潤箱に十分な量の精製水を入れてください。
- (9) 封入から鏡検までは速やかに行ってください。直ちに鏡検が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。
- (10) 対照陰性血清、対照陽性血清を対照にして検査を実施してください。
- (11) 未使用の基質スライドは必ず乾燥剤と共に密封し乾燥状態を保持してください。
- (12) 洗浄用緩衝液（10×）は、2～8℃で保存したとき、結晶を認める場合がありますが、試薬の性能に影響はありません。洗浄液調製時、十分に溶解してから使用してください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合があります。廃液、使用済み器具などは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素 1,000 ppm、1時間以上浸漬）またはグルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）による消毒処理あるいは高圧蒸気滅菌（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。
- (2) 試薬のうち、標識抗体、対照陰性血清及び対照陽性血清には保存剤として0.09%のアジ化ナトリウムが添加されています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、廃棄の際は多量の水と共に流してください。
- (3) 試薬及び器具などを廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁法などの規定に従ってください。

[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]

CODE :4645 120穴

[主要文献]

1. Friou, G. J. J Clin Invest. 1957. vol. 36, p. 890.
2. 浅川英男. MBL 自己免疫レポート No. 1. 1980.
3. Chan, E. K. et al. Front Immunol. 2015. vol. 6, p. 412.
4. Meroni, P. L. et al. Ann Rheum Dis. 2010. vol. 69, p. 1420-1422.
5. Agmon-Levin, N. et al. Ann Rheum Dis. 2014. vol. 73, p. 17-23.
6. 林伸英, 他. 臨床病理. 2016. vol. 64, no. 2, p. 142-151.
7. 生戸健一, 他. 臨床病理. 2017. vol. 65, no. 2, p. 131-137.

**[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1 1 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL : 03-6854-3613 E-mail : kensa@mbi.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1 1 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL : 03-6684-6860 FAX : 03-6854-3615

「HELIOS」は、*Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG の登録商標です。