この添付文書をよく読んでから使用してください。

**2021年2月改訂（第3版）
*2020年8月改訂（第2版）
認証番号：第302AFEZX00010000号

体外診断用医薬品

抗核抗体キット

フルオロ HEPANA－2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. 本品は、検体中の抗核抗体を測定する試薬です。被検者の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状とあわせ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致しません。
4. 対照陽性血清及び対照陰性血清には、ヒト由来成分が含まれています。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ありませんので、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. FITC標識抗体、対照陰性血清、対照陽性血清、検体希釈液には0.09％のアジ化ナトリウムが含まれています。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	160穴		240穴	
	包装	数量	包装	数量
HEp-2細胞基質スライド	8穴2枚	10袋	12穴2枚	10袋
HEp-2培養細胞				
FITC標識抗体	12.5 mL	1本	12.5 mL	1本
FITC標識抗ヒトイムノグロブリンポリクローナル抗体（ヤギ）				
PBS粉末	9.1 g	5袋	9.1 g	5袋
対照陽性血清	0.5 mL	1本	0.5 mL	1本
対照陰性血清	0.5 mL	1本	0.5 mL	1本
封入剤	3.0 mL	1本	3.0 mL	1本
検体希釈液	150 mL	1本	150 mL	1本
付属品：カバーグラス		20枚		20枚
吸収紙		40枚		40枚

［使用目的］

血清中の抗核抗体を検出又は測定する。

［測定原理］

本品は、間接蛍光抗体法を原理として血清中の抗核抗体を検出又は測定する試薬です。HEp-2細胞基質スライド上に固定されたHEp-2培養細胞に検体を反応させると、HEp-2培養細胞と検体中の抗核抗体の複合体が形成されます。さらにFluorescein isothiocyanate isomer I（FITC）標識抗体（FITC標識抗ヒトイムノグロブリンポリクローナル抗体（ヤギ））を反応させると、HEp-2培養細胞－抗核抗体－FITC標識抗ヒトイムノグロブリン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判定し、また、抗体価を決定します。

［操作上の注意］

1. 検体について
   (1) 検体は、血清を用います。血清は、常法に従って調製してください。
   (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) 検体を保存する場合、－20℃以下で7日間まで凍結保存が可能です。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
   検体における共存物質の影響を試験したところ、ヘモグロビン（490 mg/dL）、ビリルビンF（19.1 mg/dL）、ビリルビンC（21.2 mg/dL）、乳び（ホルマジン濁度1,610度数）、リウマトイド因子（500 IU/mL）までの添加において結果に影響は見られませんでした。
   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りますので使用しないでください。

［用法・用量（操作方法）］

1. 必要な器具類
   ・ビーカー（例：500 mL）
   ・自動洗浄機又は洗浄ビン
   ・スターラーバー
   ・スターラー
   ・湿潤箱
   ・染色カゴ
   ・マイクロピペット
   ・精製水
   ・蛍光顕微鏡
   ・インキュベーター
   ※自動染色機等を使用する場合、機種によって操作方法が異なる場合がありますので、使用する機種の操作方法に従ってください。対応機種及び操作方法は［問い合わせ先］にお問い合わせください。

2. 試薬の調製
   全ての構成試薬は室温（20～30℃）に戻してから使用してください。
   (1) PBSの調製
      精製水にPBS粉末1袋を溶解して1,000 mLにし、PBSとします。
   (2) その他の構成試薬はそのまま使用します。

3. 操作方法

(1) 検体の希釈

定性試験：検体を検体希釈液で40倍などに希釈します。希釈倍率は、各施設で必要に応じて設定してください。

半定量試験：定性試験で陽性と判定した検体を、検体希釈液でさらに希釈します。

(2) 一次反応

1) HEp-2細胞基質スライド（以下、基質スライド）を室温（20～30℃）に戻した後、開封します。

2) 基質スライドを湿潤箱に入れ、検体、対照陰性血清及び対照陽性血清を基質スライドのウエル（細胞固定面）にそれぞれ30～40 μL滴加します。

注意：滴加した検体が隣のウエルの検体と混ざらないようにしてください。ウエルに指やチップなどで触れたり、吸収紙でウエルに触れたりしないでください。

3) 室温（20～30℃）で30分間静置反応させます。

(3) 洗浄

1) ビーカーにあらかじめPBSと染色カゴをいれておきます。

2) 基質スライドを湿潤箱から1枚ずつ取り出し、洗浄ビンに入ったPBSで検体を洗い流してから、染色カゴに立てます。

注意：基質スライドを乾燥させないでください。

3) スターラーを使用して15分間洗浄します。

(4) 二次反応

1) 基質スライドを1枚ずつ取り出し、ウエル以外の水分を吸収紙で除去します。

2) 基質スライドを湿潤箱に入れ、FITC標識抗体を各ウエルに1滴ずつ滴加します。

注意：基質スライドを乾燥させないでください。

3) 室温（20～30℃）で30分間静置反応させます。

(5) 洗浄

(3) と同様に行います。

(6) 封入

1) 基質スライドを1枚ずつ取り出し、余分な水分を吸収紙で除去します。

2) 封入剤で封入し、カバーグラスをかけます。

注意：基質スライドを乾燥させないでください。

(7) 鏡検

蛍光顕微鏡（B励起、倍率200倍）で観察し、判定します。

注意：封入から鏡検まで速やかに行ってください。直ちに鏡検できない場合は、冷暗所に保存し、24時間以内に鏡検してください。

[測定結果の判定法]

1. 陽性（+）・陰性（−）の判定

判定	観察結果
陽性（+）	細胞核全体あるいは細胞核局所に明らかに特異蛍光が認められるもの
陰性（−）	細胞核に特異蛍光が認められないもの

検体と同時に染色した対照陽性血清が陽性と判定され、対照陰性血清が陰性と判定されることを確認してください。

陽性と判定した場合は、さらに2. に従って染色型を判定します。

2. 染色型の判定

染色型は、主に（1）～（4）に分類されます。なお、複数の染色型が混在する場合があります。

(1) 均質型（homogeneous pattern）

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。

(2) 斑紋型（speckled pattern）

間期核は全体に顆粒状の染色を示します。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。

(3) 核小体型（nucleolar pattern）

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。

(4) セントロメア型（centromere pattern）

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. 抗体価の判定

陽性（+）を示す最大希釈倍数を抗体価とします。

4. 参考値

健常人検体352例を試験した結果、54例（15.3%）が陽性、298例（84.7%）が陰性でした。

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[1)]。

[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あり、SLEなどの膠原病において高い頻度で出現します。抗核抗体の検査は、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、臨床上で極めて有用です[2) 3) 4) 5) 6)]。

本品は、基質としてヒト喉頭がん由来の培養細胞であるHEp-2細胞を使用するため、核が大きく、染色型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するため、増殖細胞核抗原（PCNA）に対する抗体を検査することも可能です。

[性能]

1. 性能

(1) 感度試験

1) 陰性管理試料8例を測定したとき、全て陰性と判定されます。

2) 陽性管理試料8例を測定したとき、全て陽性と判定されます。

(2) 正確性試験

1) 既知抗体価の管理試料3例（80倍、320倍、640倍）を測定したとき、抗体価が期待値±1管の範囲内です。

2) 既知染色型の管理試料4例（均質型homogeneous pattern、斑紋型speckled pattern、核小体型nucleolar pattern、セントロメア型centromere pattern）を測定したとき、所定の染色型と判定されます。

(3) 同時再現性試験
陽性管理試料3例（80倍、320倍、640倍）をそれぞれ3回同時に測定したとき、抗体価が2管の範囲内です。

(4) 測定範囲
40倍以上

2. 相関性試験成績
本品と同じ目的で使用する2種類の既承認（認証）品を対照として相関性試験を行いました。

(1) 既認証品Aとの相関性試験成績
122例の検体を試験した結果、陽性・陰性の判定一致率は95.9％（117/122）でした。

		既認証品A		
		陽性	陰性	計
本品	陽性	59	4	63
	陰性	1	58	59
計		60	62	122

また、既認証品Aで陽性と判定された検体における±1管以内の抗体価一致率は98.3％（59/60）でした。

本品での抗体価（倍） ＼ 既認証品Aでの抗体価（倍）	陰性	40	80	160	320	640	1280	2560
2560								2
1280							2	
640					3	7		
320				1	12			
160			1	4	1			
80			8	1				
40	4	16	1					
陰性	58	1						

(2) 既承認品Bとの相関性試験成績
122例の検体を試験した結果、陽性・陰性の判定一致率は95.9％（117/122）でした。

		既承認品B		
		陽性	陰性	計
本品	陽性	61	2	63
	陰性	3	56	59
計		64	58	122

また、既承認品Bで陽性と判定された検体における±1管以内の抗体価一致率は95.3％（61/64）でした。

本品での抗体価（倍） ＼ 既承認品Bでの抗体価（倍）	陰性	40	80	160	320	640	1280	2560
2560								2
1280							2	
640						10		
320					12	1		
160			1	4	1			
80			9					
40	2	13	6					
陰性	56	3						

3. 精度管理
間接蛍光抗体法で抗核抗体を判定する場合、蛍光顕微鏡によって照射法や励起法が異なること、施設や測定者によって判定基準が異なること、染色型の判定基準にばらつきが見られることなどの理由によって、判定結果が必ずしも一致しません。これらのばらつきを補正するために、既知濃度の管理血清や主要な染色型の管理血清を用いて判定精度を維持することが必要です。
染色型別の抗核抗体管理血清「HEPASERA™-1」（CODE：4200）などを用いて、各施設で日常的に精度管理を行うことを推奨します[7) 8)]。

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上の注意
(1) 検体はHIV、HBV、HCVなどの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、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。

2. 使用上の注意
(1) 貯蔵方法に従って保存し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
(2) 全ての構成試薬は、室温（20～30℃）に戻してから使用してください。特に基質スライドは、湿気を避けるため、確実に室温（20～30℃）に戻してから開封してください。
(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、反応時間を厳守してください。
(5) 一次反応や洗浄の際に、検体が隣のものと混ざらないように注意してください。
(6) 反応中や洗浄後に基質スライドを乾燥させないように注意してください。
(7) 対照陰性血清、対照陽性血清を対照にして試験を実施してください。
(8) 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。
(9) カバーグラスはガラス製で割れやすいため、注意して扱ってください。

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。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。
・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。
・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。
・121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。
試薬や器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法などの規定に従ってください。
(2) 血清などが飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオルなどでふき取り、0.1％次亜塩素酸ナトリウム

溶液で清拭してください。また、使用した手袋やペーパータオルなどは、廃棄上の注意（1）に従って、処理、廃棄してください。

（3）FITC標識抗体、対照陰性血清、対照陽性血清、検体希釈液には、0.09％のアジ化ナトリウムが含まれています。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む廃液は十分な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：15箇月

（使用期限は外箱に表示されています。）

［包装単位］

CODE	製品名	包装
4450	フルオロHEPANA-2テスト 160穴	8穴×20枚
4455	フルオロHEPANA-2テスト 240穴	12穴×20枚

［主要文献］

1）Tan, E. M. et al. Arthritis Rheum. 1997, vol. 40, p. 1601-1611.

2）Friou, G. J. J Clin Invest. 1957, vol. 36, p. 890-897.

3）Chan, E. K. L. et al. Front Immunol. 2015, vol. 6, 412.

4）Andrade, L. E. C. et al. Clin Chem Lab Med. 2018, vol. 56, p. 1783-1788.

5）Meroni, P. L. ; Schur P. H. Ann Rheum Dis. 2010, vol. 69, p. 1420-1422.

6）Agmon-Levin, N. et al. Ann Rheum Dis. 2014, vol. 73, p. 17-23.

7）熊谷俊一. 厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）総括研究報告書, 平成16年度　総括研究報告書. 平成17年（2005年）3月.

8）熊谷俊一, 他. 臨床病理. 2009, vol. 57, p. 31-41.

*［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2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

〒396-0002　長野県伊那市手良沢岡1063-103

TEL：0265-76-1777　FAX：0265-76-0584

「HEPASERA／ヘパセラ™」は株式会社医学生物学研究所の登録商標です。（登録商標　第3207260号）