

体外診断用医薬品

抗核抗体キット

フルオロ HEPANA-2テスト(Fシリーズ)

[全般的な注意]

- 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。
- 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。
- 添付文書以外の使用方法については保証致しません。
- 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、感染の可能性のあるものとして注意して取り扱ってください。
- 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	包装	数量
HEp-2細胞基質スライド	96穴	25枚
HEp-2培養細胞		
FITC標識抗体	20 mL	10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）		
洗浄用緩衝液	100 mL	10本
対照陽性血清	0.5 mL	1本
対照陰性血清	0.5 mL	1本
封入剤Fシリーズ	8 mL	20本
検体希釈液	1 L	1本

付属品：カバーガラス 50枚
カセットプレート 1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]

- 検体について
 - 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。
 - 希釈後の検体は即日測定してください。
 - 検体の保存性
 - 採血後はなるべく早く測定してください。
 - 検体を保存する場合、 -20°C 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。
- 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）]

- 必要な器具類
 - マイクロピペット
 - 自動洗浄機又は洗浄ビン
 - 精製水
 - 蛍光顕微鏡
 - 自動染色機
- 試薬の調製
全ての構成試薬は室温 ($20\sim 30^{\circ}\text{C}$) に戻してから使用してください。
 - 洗浄用緩衝液の調製
必要量の洗浄用緩衝液を精製水で10倍に希釈し、洗浄液とします。例えば、洗浄用緩衝液100 mLに精製水900 mLを加えて希釈します。
 - その他の構成試薬はそのまま使用します。
- 操作方法
 - 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、カセットプレートを装着します。
注意：カセットプレートへの無理な圧力や衝撃を避けてください。
 - 2) 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ェルにそれぞれ50 μL分注します。
注意：基質スライドの細胞固定表面や撥水处理表面に指やチップで触れないようにしてください。検体などは、ウェルの底（ガラス面）に直接分注してください。分注後、分注した液が細胞固定面に達していることを確認してください。
 - 3) 室温（20～30℃）で30分間静置反応させます。
- (3) 洗浄
 - 1) ウェルから反応液を除去します。
 - 2) 洗浄液300 μLを各ウェルに加えた後、除去します。
 - 3) この洗浄操作を5回繰り返します。
注意：基質スライドを乾燥させないでください。
- (4) 二次反応
 - 1) FITC標識抗体50 μLを各ウェルに分注します。
 - 2) 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) カセットプレートを外し、基質スライドを取り出します。
注意：基質スライドがカセットプレートの上側に張り付いていることがあります。
 - 2) 封入剤で封入し、カバーガラスをかけます。
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		計
		陽性	陰性	
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		計
		陽性	陰性	
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、検体が隣のものとは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) カバーガ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。
- (10) 洗浄用緩衝液は、2～8℃で保存したとき結晶が認められる場合がありますが、試薬の性能に影響はありません。洗浄液調製時に、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
4460-100	Fシリーズ用 HEp-2細胞基質スライド	96穴×25枚
4460-200	封入剤 Fシリーズ	8 mL×20本
4460-300	Fシリーズ用 FITC標識抗体	20 mL×10本
4460-400	検体希釈液	1 L×1本
4460-500	Fシリーズ用 洗浄用緩衝液	100 mL×10本
4460-600	Fシリーズ用 カバーガラス	50枚
4460-700	Fシリーズ用 カセットプレート	1枚
4450-30	対照陽性血清	0.5 mL×1本
4450-40	対照陰性血清	0.5 mL×1本

[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@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

「HEPASERA／へパセラTM」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）