体外診断用医薬品

2021 年 12 月作成(第 1 版)

BIO-RAD

33321-PI01　　承認番号:30300EZX00060000

ミエロペルオキシダーゼ抗好中球細胞質自己抗体キット
プロテイナーゼ 3－抗好中球細胞質自己抗体キット
抗 GBM 抗体キット

BioPlex Vasculitis キット

(BioPlex 2200 Vasculitis Reagent Pack)

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要なときに読めるように保管しておいてください。

■全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 添付文書に記載の使用方法に従ってください。それ以外の使用で得られたデータについては保証を致しかねます。
3. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
4. 使用する機器（BioPlex2200システム）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。
5. 本品、BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット、BioPlex Vasculitis コントロールセット、BioPlex2200 洗浄液及び BioPlex2200 シース液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、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等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

■形状・構造等(キットの構成)

・試薬パック

試薬	主要成分	規格
ビーズセット BEAD	磁性ビーズ MPO 抗原、PR3 抗原、GBM 抗原	1 本 (10 mL)
コンジュゲート CONJ	フィコエリスリン標識抗ヒト IgG マウスモノクローナル抗体	1 本 (5 mL)
検体希釈液 DIL	トリエタノールアミン緩衝液	1 本 (10 mL)

■使用目的

血清中のミエロペルオキシダーゼ抗好中球細胞質自己抗体(MPO-ANCA)、プロテイナーゼ3－抗好中球細胞質自己抗体(PR3-ANCA)及び抗GBM抗体(抗糸球体基底膜抗体)の検出

■測定原理

本品は、蛍光免疫測定法（FIA）を原理として用いており、蛍光免疫測定装置にフローサイトメトリー装置を組み入れた専用分析装置BioPlex2200システムにて検出します。
1回の測定で、抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体の検出を同時に行うことができます。
MPO抗原、PR3抗原又はGBM抗原を固相化した磁性ビーズと検体中の抗MPO抗体、抗PR3抗体又は抗GBM抗体がそれぞれの抗原に結合します。そこに、フィコエリスリン標識抗ヒトIgGマウスモノクローナル抗体を蛍光標識抗体として加えると、抗MPO抗体、抗PR3抗体又は抗GBM抗体と結合し、複合体を形成します。
蛍光強度を測定することで磁性ビーズに結合した抗MPO抗体、抗PR3抗体又は抗GBM抗体を検出します。

■操作上の注意

本品はBioPlex2200システムの専用試薬です。

1. 測定検体の性質、採取法

1）本品による測定は、血清を使用してください。
2）溶血した検体は使用しないでください。
3）採取した検体は2～8℃で保存し、7日以内に使用してください。7日以内に使用しない場合は-20℃以下で凍結保存してください。
4）凍結・融解を4回以上繰り返した検体は使用しないでください。
5）冷蔵または凍結保存されていた検体は、室温に戻しよく混和してから使用してください。
6）フィブリン等の凝集塊が著しい検体は、遠心して除去してから使用してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

1）妨害物質の検討はCLSI Protocol EP7-A2 (vol.25, No. 27) に従って実施しました。検討した各物質について、以下の表に示す濃度では測定値に影響を及ぼしませんでした。

妨害物質	濃度
ヘモグロビン	500 mg/dL
ビリルビン（非抱合型）	20 mg/dL
ビリルビン（抱合型）	30 mg/dL
トリグリセライド	3500 mg/dL
総タンパク	12.9 g/dL
コレステロール	500 mg/dL
赤血球	0.4 %(v/v)
ガンマグロブリン	6 g/dL
β カロテン	0.6 mg/dL
アスコルビン酸	3 mg/dL

2）本品の検出項目について交差反応性を検討したところ、以下のとおりの結果となりました。

検討抗体	一致度		
	抗 MPO 抗体	抗 PR3 抗体	抗 GMB 抗体
抗核抗体	10/10	10/10	10/10
抗酵母IgG抗体〔Anti *Saccharomyces cerevisiae* antibodies IgG(ASCA)〕	10/10	9/10	10/10
抗カルジオリピン抗体	10/10	10/10	10/10
抗dsDNA抗体	10/10	10/10	10/10
抗ヒストン抗体	8/10	8/10	10/10
リウマチ因子	10/10	10/10	10/10
抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体	10/10	10/10	10/10
抗tTG IgG抗体	7/7	7/7	7/7
抗平滑筋抗体	10/10	10/10	10/10
抗HCV IgG抗体	10/10	10/10	10/10
抗HIV抗体	10/10	10/10	10/10

抗酵母IgG抗体において抗PR3抗体で1検体、抗ヒストン抗体において抗MPO抗体で2検体、抗PR3抗体で2検体に不一致が認められました。

■用法・用量(操作方法)

1. 試薬の調製法

全ての試薬はそのまま用います。開封後2～8℃に保存した場合30日間は安定です。未開封で2～8℃に保存した場合は、各試薬に表示された使用期限まで安定です。

2. 必要な器具・試薬

1）BioPlex2200システム
2）BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット
3）BioPlex Vasculitis コントロールセット
4）BioPlex2200 洗浄液
5）BioPlex2200 シース液
6）BioPlex2200 反応ベッセル
7）マイクロピペット
8）サンプリングチップ

3. 測定操作法

1）測定にはBioPlex2200システムを使用します。その際、BioPlex 2200システムの取扱説明書を参照してください。

2) 測定を開始する前に、BioPlex Vasculitis キャリブレーターセットを用いてキャリブレーションを行います。
キャリブレーションは、30日ごと、もしくは試薬ロットが変更されたときに1回行います。BioPlex2200システムは、4濃度のキャリブレーターを測定して検量線を作成、記憶します。
3) 測定を開始する前に、BioPlex Vasculitis コントロールセット、もしくは管理血清を用いて性能を確認します。
4) BioPlex2200システムに検体をセットし、測定を開始します。測定は全自動で行われます。
① 検体（5μL）をBioPlex2200 洗浄液（45μL）とともにBioPlex2200 反応ベッセルに添加します。さらに検体希釈液（100μL）をBioPlex2200 洗浄液（150μL）とともにBioPlex2200 反応ベッセルに添加し、37±1℃で2分間加温します。
② ①にビーズセット（100μL）を加え、37±1℃で20分間反応させます。検体中に存在する抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体が磁性ビーズに固相化された各種抗原に結合します。
③ 磁性ビーズを磁石でBioPlex2200 反応ベッセル壁に固定し、BioPlex2200 洗浄液を用いて4回洗浄し、余分な検体を除去します。
④ コンジュゲート（50μL）を加え懸濁させた後、37±1℃で10分間反応させます。
⑤ 磁性ビーズを磁石で再度BioPlex2200 反応ベッセル壁に固定し、BioPlex2200 洗浄液を用いて4回洗浄し、余分なコンジュゲートを除去します。
⑥ ⑤の磁性ビーズにBioPlex2200 洗浄液（50μL）を加え懸濁させた後、懸濁液をフローサイトメーターのフローセルに吸引させます。
⑦ フローサイトメーターを用いて磁性ビーズを分類した後、蛍光光度計にて532 nmの励起波長を用い565～585 nmの蛍光を測定し、検量線から結果を判定します。

■測定結果の判定法

1. 判定

1) 検量線の作成
30日毎に1回、あるいは新しいロットの試薬パックを使う際はBioPlex Vasculitis キャリブレーターセットを用いて、キャリブレーションを実施してください。詳細は、BioPlex 2200システムの取扱説明書を参照してください。BioPlex Vasculitis キャリブレーターセットにはレベル1から4まで各抗体濃度の異なるキャリブレーターが4本含まれています。各抗体の検量線はキャリブレーターの測定値を使用して作成されます。

2) 結果の判定
以下のように判定されます。

測定項目	測定値	結果
抗 MPO 抗体	＜1.0 AI	陰性
	≧1.0 AI	陽性
抗 PR3 抗体	＜1.0 AI	陰性
	≧1.0 AI	陽性
抗 GBM 抗体	＜1.0 AI	陰性
	≧1.0 AI	陽性

AI（Antibody Index）は、キャリブレーターに対して相対的な抗体量を反映する自社で設定した指標です。
1.0AIはカットオフ値となるように設定されますが、判定保留域を設定する場合があるため、実際のカットオフ値は測定項目ごとに調整されます。

2. 判定上の注意

1) 本品による判定結果は診断の補助としてのみ使用してください。
2) 健常人でも陽性となる場合があります。
3) 検体中の免疫複合体などによる非特異反応の可能性があります。判定結果に基づく診断は、他の検査結果や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。
4) ステロイドや免疫抑制剤による治療を受けている場合、陰性となることがあります。
5) 臨床症状により他の測定原理及び測定試薬とは判定結果が異なる場合があります。診断を行う際にはこの点を考慮の上、他の関連する検査結果や臨床症状等を含めて総合的に判断してください。

■性能

1. 性能

測定操作法に記載の操作方法に従い、下記の試験を行った場合、各々の規格に適合します。

1) 感度試験
抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体の陰性コントロールを試料として試験するとき、それぞれ0.0AI以上0.7AI以下となります。
抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体の陽性コントロールを試料として試験するとき、それぞれ1.0AI以上4.9AI以下となります。

2) 正確性試験
抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体の陰性コントロール及び陽性コントロールを試料として試験するとき、それぞれ陰性及び陽性を示します。

3) 同時再現性試験
抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体の陰性コントロール及び陽性コントロールを所定の操作で3回繰り返し試験するとき、すべて同一の判定結果を示します。

管理用物質: ここで用いる陰性コントロール及び陽性コントロールはヒト血清由来のものであり、各コントロールの範囲は以下のとおりです。

測定項目	陰性コントロール	陽性コントロール
抗MPO抗体	0.0 – 0.7 AI	1.0 – 4.9 AI
抗PR3抗体	0.0 – 0.7 AI	1.0 – 4.9 AI
抗GBM抗体	0.0 – 0.7 AI	1.0 – 4.9 AI

2. 最小検出感度

測定項目	測定範囲（検出感度）
抗MPO抗体	0.2AI
抗PR3抗体	0.2AI
抗GBM抗体	0.2AI

3. 相関性

本品と既承認品との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

抗MPO抗体

		既承認品1			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	28	0	0	28
	陰性	0	0	28	28
合計		28	0	28	56

全体一致率:100.0% ((28+28)/(28+28))
陽性一致率:100.0% (28/28)
陰性一致率:100.0% (28/28)

		既承認品2			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	28	0	0	28
	陰性	0	0	28	28
合計		28	0	28	56

全体一致率:100.0% ((28+28)/(28+28))
陽性一致率:100.0% (28/28)
陰性一致率:100.0% (28/28)

抗PR3抗体

		既承認品3			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	23	2	12	37
	陰性	8	8	118	134
合計		31	10	130	171

全体一致率 : 87.6% ((23+118)/(31+130))
陽性一致率 : 74.2% (23/31)
陰性一致率 : 90.8% (118/130)

		既承認品4			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	60	0	5	65
	陰性	42	0	79	121
合計		102	0	84	186

全体一致率 : 74.7% ((60+79)/(102+84))
陽性一致率 : 58.8% (60/102)
陰性一致率 : 94.0% (79/84)

抗GBM抗体

		既承認品5			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	28	0	0	28
	陰性	0	0	28	28
合計		28	0	28	56

全体一致率 : 100.0% ((28+28)/(28+28))
陽性一致率 : 100.0% (28/28)
陰性一致率 : 100.0% (28/28)

		既承認品6			計
		陽性	判定保留	陰性	
本品	陽性	28	0	0	28
	陰性	0	0	28	28
合計		28	0	28	56

全体一致率 : 100.0% ((28+28)/(28+28))
陽性一致率 : 100.0% (28/28)
陰性一致率 : 100.0% (28/28)

4. 較正用基準物質

本品の較正用基準物質 (BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット) は、既知の抗体価をもつ複数のヒト陽性検体を混合・調製した自社基準品です。

カットオフ値はEIA法にて確認した陽性及び陰性検体を測定し、抗MPO抗体、抗PR3抗体及び抗GBM抗体それぞれの判定一致率を検証した結果、1.0AIと設定されております。そのときの全体一致率はそれぞれ97.4%、94.7%及び98.9%を示します。

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上(危険防止)の注意

1) 検体はHBV、HCV、HIVなどの感染の恐れがあるものとして取扱ってください。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) BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット及びBioPlex Vasculitis コントロールセットは、HBs抗原、HIV-1/2及びHCV抗体の検査を行い、陰性の結果を得ています。しかしながら、万一の場合を考え感染性のあるものとして、検体同様十分に注意して取扱ってください。
3) 試薬が誤って皮膚に触れたり、目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。
4) 本品、BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット、BioPlex Vasculitis コントロールセット、BioPlex2200 洗浄液及びBioPlex2200 シース液は、0.1%未満のアジ化ナトリウムを含有しています。使用に際しては、試液が直接皮膚に付着したり、目に入らないよう注意してください。

2. 使用上の注意

1) 試薬は凍結しないように注意してください。保存する場合は指定の貯蔵方法に従って保存してください。
2) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
3) 本品は正確な値が得られるように調整してありますので、ロットの異なる試薬と組み合わせて使用しないでください。
4) 本品とBioPlex Vasculitis キャリブレーターセットは、決められた組み合わせのロットを使用してください。
5) 「測定操作法」に記載の管理血清を独自に設定しご使用になる場合は、本品による測定結果(Antibody Index(AI)値)を指標にして、本品との反応性及び安定性をご確認の上ご使用ください。

3. 廃棄上の注意

1) 検体中にはHBV、HCV、HIVなどが存在する場合がありますので、使用した器具(ピペット、試験管など)、廃液などは、次亜塩素酸ナトリウム液(有効塩素濃度1,000ppm以上、1時間以上浸漬)などによる消毒のほか、オートクレーブ処理(121℃、20分)による滅菌や焼却などの処理を行ってください。
2) 検体または検体を含む溶液が飛散した場合は下記の方法を参考にして処理してください。
   - アルカリ性溶液が飛散した場合は、飛散した部分を次亜塩素酸ナトリウム液(有効塩素濃度1,000ppm以上)で消毒した後拭き取り、廃棄バッグにいれて決められた指針に従って廃棄してください。
   - 酸性溶液が飛散した場合は、重炭酸ナトリウムなどを用いて中和させた後、同様に次亜塩素酸ナトリウム液を用いて処理してください。
3) 本品、BioPlex Vasculitis キャリブレーターセット、BioPlex Vasuculitis コントロールセット、BioPlex2200 洗浄液及びBioPlex2200 シース液は、0.1%未満のアジ化ナトリウムを含有しています。アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成する可能性がありますので、廃棄する場合は大量の水と共に流してください。
4) 試薬及び容器等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

2～8℃で、凍結を避けて保存してください。

2. 有効期間

24ヶ月間(使用期限は外箱ラベルに記載されています)

■包装単位

1キット : 100回用

■主要文献

1) 【ダイジェスト版】血管炎症候群の診療ガイドライン Circulation Journal Vol.72, Suppl. IV, 2008
2) 佐伯敏明:特集 ここまでわかっている自己抗体と自己免疫疾患 免疫学的検査:自己抗体(臓器) 小児科診療 2010年12号
3) 林 伸英、生戸 健一:マルチプレックス技術の生体試料分析への応用. 生物試料分析 2013;36:229-234
4) 宮原涼馬、志村浩己:抗好中球細胞質抗体測定試薬エリア MPOs-ANCA およびエリアPR3s-ANCAの特性に関する基本的および臨床的検討 医学と薬学 第73巻第1号 2016年1月
5) 串田久子、東出正人:ファディア250を用いた自己抗体試薬「エリア」の基礎的検討.医学と薬学 第75巻第10号 2018年10月
6) 太田俊之、秋永理恵:抗好中球細胞質抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody:ANCA)測定試薬間差とANCA検査の臨床的妥当性の検討:後方視的横断研究 臨床病理 67:4・2019(原著)
7) 柴田美帆、熊谷俊一:MPO-ANCA、PR3-ANCA、抗GBM抗体の3項目同時マルチプレックス法(BioPlex 2200 Vasculitis Reagent Pack)のANCA関連血管炎での性能評価 臨床病理 68:11・2020(原著)

■問い合わせ先

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
〒140-0002
東京都品川区東品川2-2-24 天王洲セントラルタワー
TEL:0120-925-046
FAX:03-5463-8481

製造販売元
バイオ・ラッド　ラボラトリーズ株式会社
東京都品川区東品川 2-2-24　天王洲セントラルタワー
TEL:03-6361-7070