

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、必要な時に読めるように保管しておいてください。

A4B01T

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：20900AMZ00456000

＊＊2019年 3月改訂（第6版）

＊2014年11月改訂（第5版）

抗核抗体キット

* 抗核抗体（ANA）（FA）「FR」 蛍光抗体法（FA）による血清中の抗核抗体の検出用試薬

■全般的な注意

- （1）本製品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
- （2）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。
- （3）添付文書以外の使用方法については保証をいたしません。
- *（4）本試薬および検体は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
- （5）対照用陽性血清および対照用陰性血清には、ヒト由来の成分が含まれており、感染の危険がありますので感染性のあるものとして取扱ってください。
- （6）使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- （7）リン酸緩衝液、グリセロール溶液および対比染色液には、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処置を行い、必要に応じて医師の手当等を受けてください。

＊＊ ■形状・構造等（キットの構成）

	構成試薬	規 格	
		400回用	4000回用
①	HEp2スライド ヒト喉頭癌由来細胞（HEp-2）固定ウエル	5スライド×1袋 （80ウエル/スライド）	5スライド×10袋 （80ウエル/スライド）
②	蛍光色素標識抗体 FITC標識抗ヒトイムノグロブリン ポリクローナル抗体（ウサギ）	0.1mL×1本	0.1mL×10本
③	対照用陽性血清 抗核抗体陽性血清	0.1mL×1本	0.1mL×10本
④	対照用陰性血清 抗核抗体陰性血清	0.1mL×1本	0.1mL×10本
⑤	リン酸緩衝液 リン酸水素二ナトリウム・12水	500mL×1本	500mL×10本
⑥	グリセロール溶液 グリセリン	5.0mL×1本	5.0mL×10本
⑦	対比染色液 エバンスブルー	0.5mL×1本	0.5mL×10本

■使用目的

血清中の抗核抗体の検出

■測定原理

本キットは、蛍光抗体法（FA）を用いてヒト血清中の抗核抗体を検出する試薬です。定量する場合は希釈して試験を行い、その最終価を抗体価とします。
HEp-2細胞（核材）に検体（抗体）を反応させた後、蛍光色素標識抗体を反応させ蛍光顕微鏡で観察します。抗核抗体（ANA）が陽性的場合には、核材に抗体が結合して免疫複合体を形成し、これにFITC標識抗ヒトイムノグロブリンポリクローナル抗体（ウサギ）が結合して、陰性対照よりも強い蛍光が観察されます。

■操作上の注意

1. 測定試料の性質、採取法

- （1）検体は出来るだけ新鮮なものを使用してください。
- （2）高脂血清や溶血した血清の使用は避けてください。
- （3）非働化（60℃、5分）を5回まで繰り返した血清は反応に影響を与えません。
- （4）凍結融解を5回まで繰り返した血清は反応に影響を与えません。

- （5）血清中には他の自己抗体が含まれていることがあり、鏡検時に複数の染色型が観察されることがあります。また、細胞質が染色した場合、抗リボソーム抗体、抗SS-A抗体、抗ミトコンドリア抗体、抗平滑筋抗体等が考えられます。

2. 妨害物質・妨害薬剤

- （1）ビリルビン（遊離型1.88mg/mL、抱合型2.0mg/mL）、乳び（23600度）、ヘモグロビン（45.3mg/mL）までは反応に影響を与えません。
- （2）抗凝固剤〔ヘパリン（926UNIT）、EDTA（5.0mg/mL）、クエン酸ナトリウム（3.8%）〕までは反応に影響を与えません。

3. その他

- （1）検体相互の汚染による判定誤差を防ぐため各検体毎にチップを交換してください。
- （2）各反応は必ず湿潤箱中で行ってください。
- （3）操作は速やかに行い、直ちに次の操作に進んでください。

■用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製方法

使用時に次の操作をしてください。

構成試薬	調製法	調製後の安定性
HEp2スライド	常温に戻し、そのまま用います。	開封後、2～10℃で2日間、 -18℃以下で1週間
蛍光色素標識抗体	調製した対比染色液で235倍に希釈して用います。	2～10℃で3日間
対照用陽性血清	調製したリン酸緩衝液で40倍に希釈して用います。	2～10℃で2週間
対照用陰性血清	調製したリン酸緩衝液で40倍に希釈して用います。	2～10℃で2週間
リン酸緩衝液	精製水で10倍に希釈して用います。	2～10℃で2週間
グリセロール溶液	そのまま用います。	2～10℃で期限内
対比染色液	調製したリン酸緩衝液で5000倍に希釈し、「蛍光色素標識抗体」希釈に用います。	2～10℃で2日間

※ 調製後の試薬は、直ちに使用することを原則としてください。

※ 使用濃度に希釈した蛍光色素標識抗体は冷暗所（2～10℃）に保存し、3日間以内に使用してください。

2. 必要な器具・器材・試料等

- ・湿潤箱
- ・マイクローピペット（10～200μL）
- ・染色カゴ
- ・蛍光顕微鏡
- ・洗浄槽
- ・ペーパータオル等

3. 測定（操作）法

- （1）検体の希釈
検体は、希釈したリン酸緩衝液で40倍に希釈します。なお、定量する場合は、検体を適当に希釈して用います。
希釈した検体は当日中に使用してください。
- （2）検体の採取
希釈した検体、対照用陽性血清および対照用陰性血清のそれぞれ15～25μLをスライドの該当するウエルに滴下します。
- （3）1次反応
スライドを湿潤箱に移し、室温（20～30℃）で45分間反応させます。
- （4）洗浄
①反応終了後スライドを湿潤箱から取り出し、洗瓶などを使用して希釈したリン酸緩衝液で静かに未反応の希釈した検体を洗い流します。
②スライドを染色カゴに立て、予め希釈したリン酸緩衝液を入れた洗浄槽に10分間浸して洗浄します。このとき浸漬中および取り出す直前に軽く振とうします。
③スライドを取り出し、軽く振って水切りをします。スライドの付着水をペーパータオルなどの上で軽くたたいて除いた後、すみやかに次のステップに進みます。
- （5）2次反応
希釈した蛍光色素標識抗体を40～60μLスライド上の該当するウエルの外まで広がるくらいに滴下し、再び湿潤箱中で室温（20～30℃）で60分間反応させます。この際、過剰の光が当たらないように注意します。
- （6）洗浄
（4）項と同様の洗浄操作を行います。
- （7）鏡検
操作終了後、蛍光顕微鏡（200倍が適当）で観察します。必要に応じて、グリセロール溶液を各スライドに2～3滴下してマウントし、カバーガラスを静かに載せ、観察します。鏡検は操作終了後直ちに行い、操作上やむを得ないときには冷暗所（2～10℃）に保存し18時間以内に観察します。

■測定結果の判定法

- (1) 陽性の判定
細胞核の蛍光強度が対照用陰性血清よりも明るく染色型が識別できれば、その検体は陽性と判定します。
- (2) 陰性の判定
細胞核の蛍光強度が対照用陰性血清と同じ程度であるか、又は、特別な染色型を示していなければ、その検体は陰性と判定します。
- (3) 蛍光強度の等級
陽性：4+；輝くような黄緑色の蛍光を示す。
陽性：3+；明るい黄緑色の蛍光を示す。
陽性：2+；明るくはないが明確に識別できる黄緑色の蛍光を示す。
陽性：1+；弱いが、特異蛍光を示す。
陰性：－；黄緑色の蛍光を示さない。
- (4) 判定基準
希釈倍数1：40以上で陽性の判定ができる検体を陽性としします。なお、定量した場合は、蛍光強度1+を認める最高希釈倍数を抗体価とします。
- (5) 染色型とANA関連抗体

染色型	染色像
pattern	抗核抗体関連抗体と各種膠原病
均質型	核全体が染色されるもの
Homogeneous or Diffuse	抗不溶性DNP抗体：SLE、RA、PSS 抗可溶性DNP抗体：SLE 抗ヒストン抗体：薬剤誘発性SLE、SLE、RA
辺縁型	核の辺縁部が染色されるもの
Shaggy, Peripheral or Membranous	抗2本鎖DNA抗体：SLE 抗1本鎖DNA抗体：SLEを含む膠原病、薬剤誘発性ループス、UCTD 抗2本鎖1本鎖DNA抗体：SLE
斑紋型	核内に粒状に染色されるもの
Speckled	抗RNP抗体：MCTD、SLE、PSS、SjS、RA、UCTD、オーバーラップ症候群 抗Sm：SLE、オーバーラップ症候群 抗SS-A抗体：SjS、SLE、PSS、MCTD、オーバーラップ症候群 抗SS-B抗体：SjS、SLE、オーバーラップ症候群 抗Scl-70抗体：PSS、オーバーラップ症候群 抗Jo-1抗体：PM/DM、オーバーラップ症候群 抗Ku抗体：PSS-PM、オーバーラップ症候群 抗Ki抗体：SLE、PSS、PM/DM、オーバーラップ症候群 抗RANA：RA
散在斑点型	核内に均一の斑点（40～60個）が染色されるもの
(セントロメア型)	抗セントロメア抗体：PSS（CREST症候群）
Discrete-speckled or Centromere	
核小体型	核内の核小体が染色されるもの
Nucleolar	抗RNA抗体：PSS、SjS、UCTD 抗核リボソーム抗体：SLE、PM/DM、オーバーラップ症候群
PCNA型	陽性と陰性に染色された核が混在するもの
PCNA	抗PCNA抗体：SLE

PCNA：proliferating cell nuclear antigen（増殖性細胞核抗原）
SLE：全身性エリテマトーデス、PSS：強皮症（進行性全身性硬化症）
RA：慢性関節リウマチ、SjS：シュエーグレン症候群
MCTD：混合性結合組織病、PM/DM：多発性筋炎/皮膚筋炎
UCTD：分類不能膠原病、オーバーラップ症候群：膠原病重複症候群

- (6) 参考正常値
陰性（1：40未満）

■性能

1. 性能
- (1) 感度
■用法・用量（操作方法）に従い、対照用陽性血清および対照用陰性血清を試験するとき、それぞれ血清希釈倍数1：40における蛍光強度は2+以上および－を示します。
- (2) 正確性
■用法・用量（操作方法）に従い、既知濃度の自家管理検体4例（陽性3例、陰性1例）を試験するとき、それぞれ所定の陽性または陰性の反応を示します。
- (3) 同時再現性
■用法・用量（操作方法）に従い、既知濃度の検体を用いて、3回繰り返して試験をするとき、蛍光強度の最頻値±1以内の反応を示します。

2. 相関性試験成績

既存FA法との比較試験成績（自社データ）
定性法による試験成績
N=120例
一致率 100.0%（120/120例）
対陽性一致率 100.0%（65/65例）
対陰性一致率 100.0%（55/55例）

		対照法		合計
		+	－	
本 法	+	65	0	65
	－	0	55	55
合計		65	55	120

3. 校正用の基準物質

製造元製基準物質

■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) 対照用陽性血清および対照用陰性血清は、HBs抗原検査陰性、HIV抗体検査陰性、HCV抗体検査陰性であることを確認していますが、検体同様十分注意して取扱ってください。
- (2) 検体中にはHBV、HIV、HCVなどの存在が考えられますので、検体の取扱いには十分に注意してください。
- (3) リン酸緩衝液、グリセロール溶液および対比染色液は、保存剤としてアジ化ナトリウムを含んでいます。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で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。

2. 使用上の注意

- (1) 添付文書に記載された方法に従って使用してください。
- (2) 本キットは入手後直ちに2～10℃に保存してください。また、対照用陽性血清、対照用陰性血清は-18℃以下、蛍光色素標識抗体、リン酸緩衝液、グリセロール溶液、対比染色液は2～10℃に保存し、いずれも保存条件を厳守してください。
- (3) 本キット内の試薬を血清中の抗核抗体検出以外の目的で使用しないでください。
- (4) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 使用した試料、廃液および器具等は、次亜塩素酸剤などによる消毒や、オートクレーブ処理（121℃、20分間以上）を行ってください。
- (2) リン酸緩衝液、グリセロール溶液および対比染色液は、保存剤としてアジ化ナトリウムを含んでいますので、廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水で流してください。
- (3) 使用後の容器、試薬、廃液および器具等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って処理してください。

4. 診断上の注意

測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせて担当医師が総合的に判断してください。

■貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

- (1) HEp2スライド 2～10℃
(2) 蛍光色素標識抗体 2～10℃
(3) 対照用陽性血清 -18℃以下
(4) 対照用陰性血清 -18℃以下
(5) リン酸緩衝液 2～10℃
(6) グリセロール溶液 2～10℃
(7) 対比染色液 2～10℃

2. 有効期間

製造後6ヵ月

■包装単位

400回用 4000回用

■主要文献

- 1)川村明義：免疫学・アレルギー学実験法（進藤苗二監修）（文光堂）. 553-577,1971.
2)東條 毅：抗核抗体, medicina 31(11) 増刊号：596-598, 1994.
3)宮脇昌二：抗核抗体（間接蛍光抗体法による）. Medical Technology 18(7) 増刊号：570-573, 1990.
4)秋月正史：膠原病「検査と診断」（自己抗体検査データ集）SRL刊行

*■問い合わせ先

* * 富士レビオ株式会社 お客様コールセンター
TEL：0120-292-832

*■製造販売元

富士レビオ株式会社
東京都八王子市小宮町51番地

